

Aus der Chirurgischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen—Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. G. Hegemann

Nervennaht und Nervenklebung im histologischen Bild

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Ilse Schuh
aus Fürth

1977

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548420_0041

Aus der Chirurgischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen—Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. G. Hegemann

Nervennaht und Nervenklebung im histologischen Bild

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
dem Fachbereich Medizin
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von
Ilse Schuh
aus Fürth

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin
der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. E. Rügheimer

Referent: Prof. Dr. J. Geldmacher

Korreferent: Prof. Dr. G. Hegemann

Tag der mündlichen Prüfung: 10.11.1977

INHALTSVERZEICHNIS

SEITE

EINLEITUNG

1

KLEBELÖSUNGEN

9

OPERATIONSTECHNIK

13

MAKROSKOPISCHE BEGUTACHTUNG

17

HISTOLOGISCHE TECHNIK

21

HISTOLOGISCHE BEGUTACHTUNG

23

DISKUSSION

40

ZUSAMMENFASSUNG

50

LITERATURVERZEICHNIS

52

EINLEITUNG

Die Läsionen peripherer Nerven bringen dem Chirurgen ein Arbeitsfeld, bei dem die anatomischen und funktionellen Besonderheiten des Nervengewebes zu berücksichtigen sind. Nach dem Wallerschen Gesetz kann eine Nervenfaser nur dann ihre physiologische und strukturelle Unversehrtheit behalten, wenn ihre Verbindung zur zentralen Ganglienzelle intakt bleibt. Im Falle einer Neurotmesis, der glatten Durchtrennung des Nerven samt seiner bindegewebigen Hülle, geht diese Verbindung verloren, ist die Nervenfaser zur Degeneration verurteilt. In ihrem Verlauf zeigen sich am proximalen wie distalen Stumpf regressive und progressive Veränderungen. Zunächst werden Myelinscheide und Achsenzylinder aufgelöst. Dann treten Makrophagen auf, welche diese Abbauprodukte resorbieren. Die Schwannschen Zellen wandeln sich um und proliferieren zu bindegewebigen Strängen, den Bügnerschen Bändern. Der nun folgende Vorgang, die von der unversehrt gebliebenen zentralen Ganglienzelle ausgehende Proliferation der Axone, stellt den wichtigsten Teil der Regeneration dar. Weiter gehören zu diesen progressiven Vorgängen die Myelinisierung der neugebildeten Nervenfasern, die Wiederherstellung aller bindegewebigen Hüllen, das Breitenwachstum des Nerven und seine funktionelle Wiederherstellung.

Die Wachstumsart und Wachstumsgeschwindigkeit der proliferierenden Achsenzylinder ist von verschiedenen Faktoren abhängig: Liegen parallele Leitschienen vor, wie erhaltene Myelinscheiden bzw. Bügnersche Bänder, so erfolgt es geordnet, fehlen sie - wie im Narbengewebe - so resultiert ein ungeordnetes Wachstum. Falls sich die neugebildeten Elemente ungehindert nach distal verschieben können, ist die Wachstumsgeschwindigkeit hoch, müssen sie dichtes Bindegewebe passieren ist sie niedrig, es kann sogar ein Wachstumsstillstand erfolgen.

Überträgt man diese Überlegungen auf die Verhältnisse, die der Chirurg bei einer peripheren Nervendurchtrennung vorfindet, so ist zu fordern, daß er durch die Überbrückung des entstandenen Defekts aussichtsreiche Bedingungen für die Regeneration schafft.

Die konventionelle Technik der epineuralen Knopfnahst besteht im Vernähen der Epineuralmäntel von distalem und proximalem Stumpf. Als Nahtmaterial diente zunächst Seide, später Tantaldraht, heute wird äußerst dünner Nylonfaden bevorzugt. Alle diese Materialien haben den Nachteil, daß ihr Einbringen eine Fremdkörperreaktion provozieren kann. Außerdem wird durch das Versenken des Nahtmaterials, auch wenn es so weit wie möglich im äußersten Epineurium geschieht ohne einer Nahtruptur Vorschub zu leisten, ein Trauma verursacht, das die Regenerationsergebnisse beeinflusst.

Diesen Tatbestand griffen YOUNG und MEDAWAR (1940) auf, und versuchten eine Alternative zu finden. Sie entschlossen sich zu einer Fibrinnahst, der atraumatischen Fixierung beider Nervenstümpfe durch Klebung. Die Klebelösung bestand aus dem Plasma junger Hähne, das mit Fibrinogen angereichert war und mit Hilfe eines Hühnerembryonenextraktes, der Thrombin enthielt, zur Gerinnung gebracht wurde. Während dieses Vorgangs wurden die Anastomosen unter Zugwirkung an beiden Nervenstümpfen fixiert und mit den beschriebenen Lösungen umgossen (TARLOV, DENSLOW, SWARZ und PINELES 1943), (TARLOV 1944). Das entstandene Gerinnsel zeigte sich genügend zug- und haftfest, um die adaptierten Stümpfe aneinander zu halten.

A. I. GOLDFARB, J. M. TARLOV, S. BOJAR und A. S. WIENER (1943) führten wichtige Untersuchungen über die Zugfestigkeit des Plasmaklebers bei verschiedenen hohen Konzentrationen an Fibrinogen durch. Mit der Höhe des Fibrinogengehaltes stieg auch die mechanische Belastbarkeit der Plasmanahst.

TARLOV und BENJAMIN (1943) verwendeten Fibrinogen verschiedenster Herkunft: Autologes, homologes und heterologes, und nahmen bei den unterschiedlich geklebten Nerven strukturelle Untersuchungen vor.

Bei all diesen Klebeversuchen standen die aneinander fixierten Nervenstümpfe unter Spannung, es kam zu bindegewebigen Reaktionen, welche die Ergebnisse stark beeinträchtigten.

Eines neuen Klebstoffes bedienten sich FAUL, HEISS, STRUPPLER und BRENDL (1965), HEISS und FAUL (1965) sowie KLINE und HAYES (1963). Ihr Kunststoffkleber zeitigte anfangs vielversprechende Ergebnisse. Bei der, auf Zyanacrylsäurebasis hergestellten Klebemasse polymerisieren die im flüssigen Zustand bestehenden Monomere bei Kontakt mit der Luft zu festen Polymeren. Diese Verbindung erwies sich als sehr zugfest, die funktionellen und strukturellen Ergebnisse waren gut.

BERGER, GANGLBERGER und MILLESI (1967) zeigten jedoch in Versuchen mit langer Überlebenszeit, daß sich die anfänglich guten Resultate bei Kontrolluntersuchungen mit immer längerem Abstand zur Operation deutlich verschlechterten. Als Schäden traten spätpostoperativ Degenerationsreaktionen der zuerst gut regenerierten Axone, sowie starke narbige Alterationen auf (LEHMANN, HAYES und LEONARD 1966).

War bisher die Narbenbildung im Wesentlichen auf die Traumatisierung bei der Nervennaht und auf Abwehrreaktionen des Körpers gegen Fremdsubstanzen bei Naht und Klebung zurückgeführt worden, so brachten HIGGETT und HOLMES (1943) sowie DENNY BROWN und DOHERTY (1945) und DENNY BROWN (1946) einen neuen wichtigen Gesichtspunkt in die Diskussion: Die Fixierung der Stümpfe unter Spannung. Sie konnten nachweisen, daß sich bei Zugwirkung in Längsrichtung eine Fibrose des Nerven einstellt. Ursächlich für die Fibrosierung dürften Beeinträchtigungen des nervalen Stoffwechsels sein, hervorgerufen durch Streckung des ernährenden Blutgefäßsystems. Durch die longitudinale Dehnung der Gefäße kommt es zur Einengung ihres Querschnitts, die zirkulierende Blutmenge wird reduziert, und als Folge dieser Minderversorgung kommt es zur fibrotischen Degeneration (HOLMES 1947), (SMITH 1966).

Man suchte nun nach Möglichkeiten, diese Spannung an den Anastomosenstellen abzubauen. SEDDON (1943), NIGST (1955) und BUNNELL (1958) konnten durch sorgfältige Mobilisierung des Nerven von dem umgebenden Bindegewebe, das ihn in seiner Lage fixiert, ferner durch anschließende Verlagerung des Nervenverlaufs und durch entlastende Beugstellung der benachbarten Gelenke bedeutende Verkürzungen des Defekts oder sogar spannungsfreie Adaption der Stümpfe erzielen. Außerdem wiesen sie auf die Wichtigkeit der Resektion schon entstandenen Narbengewebes an den Stümpfen hin, das die Proliferation der Axonbündel stark beeinträchtigt. Aufgrund ihrer Untersuchungen erstellten sie Tabellen, in denen sie die maximal überbrückbaren Defekt- und Resektionslängen aufzeigten, bei denen noch mit guten Ergebnissen gerechnet werden konnte.

MILLESI (1969) erhob gegen diese Techniken schwerwiegende Bedenken. In seinen Untersuchungen fand er heraus, daß durch ausgedehnte Mobilisierung des Nerven die Durchblutungsverhältnisse ebenso gestört werden, wie durch die Dehnung des Nerven, die sich nach Wegfall der entlastenden Gelenkstellung auswirkte. Durch diese Beeinträchtigungen kommt es bei zunächst gut entwickelten Regeneraten zu einer Verschlechterung der Funktionstüchtigkeit. Aus diesen Feststellungen heraus forderte er als einzig konsequenten Ausweg die absolut spannungsfreie Vereinigung der Nervenenden durch Einpassen eines Transplantates in den entstandenen Defekt, damit für die durchsprossenden Axone eine kontinuierliche Leitschiene gewährleistet ist.

Während der beiden Weltkriege wurden Nerven-transplantationen mit wechselndem Erfolg durchgeführt. Als eigentliche Pioniere auf diesem Gebiet in der klinischen Anwendung gelten BUNNELL und BOYES (1939) sowie SEDDON (1947), die diese Technik erstmals an einem großen Krankengut versuchten.

Der Verpflanzung von Nervengewebe war jedoch zu dieser Zeit noch kein großer Erfolg beschieden, sie zeigte sich der konventionellen Knopfnahmt deutlich unterlegen. Dieses Ergebnis wurde dahingehend interpretiert, daß die axonalen Regenerate durch das Zwischenschalten eines Transplantats zwei Anastomosenstellen zu durchwachsen hätten (YOUNG, HOLMES und SANDERS, 1940). Man berücksichtigte jedoch nicht, daß damals nur bei übergroßen Defekten, wenn alle Möglichkeiten erschöpft waren, eine Annäherung zwischen den Stümpfen zu erreichen, diese Technik zum Zuge kam (SEDDON, 1968). Allmählich wurde sie von dieser Ausnahmestellung befreit, und konnte durch verbesserte Ergebnisse überzeugen. Nach MILLESI (1969) bringt dabei das Vorhandensein zweier Anastomosenstellen weniger Nachteile, als eine Nahtstelle unter Spannung.

Es wurden Untersuchungen mit Transplantaten verschiedener Dicke und Länge sowie unterschiedlicher Herkunft durchgeführt. Zu dicke und zu lange Volltransplantate wachsen nicht ein, sondern werden in ihrem zentralen Teil nekrotisch. Die Ernährung der Implantate durch Diffusion von Seiten der umgebenden Gewebsflüssigkeit und vor allem durch Kollateralkreisläufe (SMITH, 1966) kann offenbar die noch nicht neu hergestellte Vaskularisierung nur begrenzt ausgleichen (BALLANCE und DUEL, 1932). Kabeltransplantate aus mehreren kleinkalibrigen Nerven zeigten jedoch gute Erfolge (BIEL-SCHOWSKY und UNGER, 1916 - 1918). Hinsichtlich der Herkunft der Transplantate hatte man mit unterschiedlich starken Abwehrreaktionen des Körpers zu kämpfen. Heterologe Nerventransplantate führten immer zu Mißerfolgen. Auch homologe Implantate zeigten nur wenig ermutigende Ergebnisse. Versuche, die dabei auftretende Immunreaktion durch Cortisonmedikation (NIGST, 1970), Konservierung des Transplantats in Kochsalzlösung (YOUNG, HOLMES und SANDERS, 1940), seine Fixation in alkoholischer Lösung (HUBER, 1920) oder hochdosierte Bestrahlung zu unterdrücken, führte zu keinen nennenswerten Erfolgen. Allein tiefgeköhlte, gefriergetrocknete homologe Nerven (WEISS und TAYLOR, 1943) erwiesen sich als einigermaßen erfolgversprechend

War nun das Problem der spannungsfreien Defektüberbrückung und Erhaltung der Kontinuität der Nervenbahn durch Einsetzen eines Transplantats gelöst, so stand immer noch die Ausbildung von Narbengewebe als wesentliches Regenerationshindernis im Brennpunkt. Um diese Narbenbildung möglichst zu unterdrücken bzw. wenigstens zu vermindern, gingen CAMPBELL, BASSET, HUSBY, THULIN und FERINGA (1961) sowie BÖHLER (1963) einen neuen Weg. Ausgehend von der Annahme, daß für die Entstehung von Narbengewebe hauptsächlich das umgebende Gewebe verantwortlich sei, scheideten sie die Nerven mit gefriergetrockneten Arterien (WEISS, 1943) bzw. mit Millipore, einer Kunststoffolie ein. Die Struktur dieser Folien und Röhrchen ließ die Diffusion kleiner Moleküle, nicht aber die Passage großmolekularer Stoffe zu. Es zeigten sich jedoch Bindegewebsvermehrung sowie exsudative Reaktionen innerhalb der Einscheidung. Somit lag die Quelle der Bindegewebsreaktionen nicht, wie angenommen, im umgebenden Gewebe, sondern im Epineurium selbst.

Auch die von FREEMAN (1965), BRAUN (1966), BERGER, MEISSL und SAMII (1970) durchgeführten modifizierten Einscheidungen - sie verwandten unterschiedliche Folien (Polyäthylentubus, Silikon- und Gelatinefilm, Mikroporen) und Techniken (Naht, Klebung, Klebung abseits der Anastomosenstelle, Anastomosierung mit und ohne Transplantat) - brachten keine wesentlichen Verbesserungen. Alle diese Versuche scheiterten vorwiegend an Fremdkörperreaktionen gegen die Einscheidungsmaterialien mit verstärkter Bindegewebsreaktion im Anastomosenbereich und damit negativer Beeinflussung der Regeneration. So reichten die hierdurch erzielten funktionellen Ergebnisse nicht an die heran, die bei den genähten Transplantaten erreicht werden konnten.

Für den Grad der Funktionsrückkehr des operierten Nerven brachte die Einführung der mikrochirurgischen Technik einen wesentlichen Schritt nach vorn.

SMITH (1964) nähte als erster unter dem Operationsmikroskop, mit MICHON (1964, 1969) begann die Ära der faszikulären Adaptionstechnik. Mit Hilfe der 16-40fachen Vergrößerung und den mikrochirurgischen Instrumenten war eine exakte Adaption der einzelnen Faszikel, eine präzisere Resektion der Nervenstümpfe und ein schonenderes Operieren mit verringerter Traumatisierung möglich, die Beeinträchtigung der Regeneration durch entstehendes oder nicht reseziertes Narbengewebe wurde wesentlich geringer. Allerdings forderte diese Technik ein gewisses Training von seiten des Operateurs, sowie ein eingespieltes Operationsteam. Die verfeinerte Operationstechnik fand jedoch nicht einhellige Zustimmung. BRAUN (1966) sprach sich direkt gegen sie aus, EDSHAGE (1964) und SEDDON (1968) fanden in ihr keine wesentliche Verbesserung. Entgegen diesen Einwänden konnte MILLESI in einer gemeinsamen experimentellen Arbeit mit BERGER und GANGLBERGER (1967) die eindeutige Überlegenheit der mikrochirurgischen gegenüber der konventionellen makrochirurgischen Naht aufzeigen, die auch GELDMACHER (1969) klinisch bestätigte.

MATRAS, DINGES, LASSMANN und MAMOLI (1972) verbanden in ihren Versuchen die Vorteile der mikrochirurgischen Operationstechnik mit denen der autologen Transplantate. Um die Nervenstümpfe aneinander zu fixieren verwendeten sie eine modifizierte, in ihrem Prinzip auf YOUNG und MEDAWAR (1940) zurückgehende Klebetechnik mit Fibrinogen und Thrombinkonzentraten. Bei ihren Ergebnissen konnte die Klebung erstmals die mikrochirurgische Naht, die bei einer Kontrollgruppe durchgeführt wurde, übertreffen.

Unsere Experimente hatten zum Ziel, bei autologen Nerventransplantaten die mikrochirurgische, epineurale Nahttechnik mit der Klebung auf Plasmabasis zu vergleichen. Dabei interessierten uns eventuell erst spätpostoperativ auftretende Reaktionen, welche anfänglich gute funktionelle Ergebnisse beeinträchtigen könnten.

Als Versuchstiere dienten uns Kaninchen eines Stammes und annähernd der gleichen Gewichtsklasse (3400 - 3800 g). Wir führten insgesamt 90 Operationen durch. Da wir eine lange Überlebenszeit von mindestens 80 Tagen als entscheidenden Parameter wählten, fielen die früher verstorbenen Tiere aus unserer Versuchsreihe heraus. Wir ließen schließlich 68 Operationen mit einer Überlebenszeit zwischen 80 und 132 Tagen zählen. Sie teilen sich folgendermaßen auf:

Die eine Hälfte (34) wurde mit autologen, die andere Hälfte mit lyophilisierten Nerven-Transplantaten versorgt. Die Operationstechnik unterteilte sich in 20 Nähte, 24 Klebungen mit autologem Fibrinogen, davon 10 unter Zusatz von Faktor XIII, 24 Klebungen mit heterologem Fibrinogen. Bei einem Tier wandten wir eine Kombination von Naht und Klebung mit autologem Fibrinogen bei autologem Transplantat an. Wir hatten also folgende Einteilung:

9 Nähte	autologe Transplantate
10 Nähte	lyophilisierte Transplantate
12 Klebungen	autologe Transplantate
	autologes Fibrinogen
	davon 5 unter Zusatz von Faktor XIII
12 Klebungen	autologe Transplantate
	heterologes Fibrinogen
12 Klebungen	lyophilisierte Transplantate
	autologes Fibrinogen
	davon 5 unter Zusatz von Faktor XIII
12 Klebungen	lyophilisierte Transplantate
	heterologes Fibrinogen

Als Beurteilungsmaßstab wählten wir die makroskopische und die histologische Begutachtung der operierten Nerven.

DIE KLEBELÖSUNGEN

Wir verwendeten zwei Komponenten zum Kleben: Die Thrombin- und die Fibrinogenlösung. Dabei wurden die im Fibrinogenkonzentrat vorliegenden Fibrinogenmoleküle nach Zusatz von Thrombin - analog dem physiologischen Vorgang der Blutgerinnung - zu zug- und haftfesten Fibrinpolymeren umgewandelt.

Die Thrombinkomponente war bei allen Klebelösungen gleich. Wir benutzten eine Standardkonzentration von 300 NIH Einheiten / ml. Das Enzym der Fibrinbildung lag uns als lyophilisierte Trockensubstanz mit 100 NIH / ml vor (Thrombinum purum Behringwerke). Um die gewünschte Konzentration zu erhalten lösten wir jeweils vor Operationsbeginn die Trockensubstanz in 0,33 ml Aqua bidest. auf.

Die Fibrinogenkomponente war unterschiedlich in ihrer Herstellung sowie ihrer Herkunft. Bei einem Teil der Klebungen kam heterologes, humanes Fibrinogen (Behringwerke) zur Anwendung. Dieses gereinigte Peptid stand uns als gefriergetrocknete Substanz zur Verfügung. In einer Stichflasche befand sich ein Gramm dieses Lyophilisates, als Lösungsmittel diente 0,9%ige NaCl. Wir versuchten, die Trockensubstanz in einem möglichst geringen Volumen aufzulösen. Um den Lösungsvorgang zu begünstigen, wurde er bei einer Wasserbadtemperatur von 37 ° C vorgenommen. Nach Beendigung wurde das sehr visköse, bernsteinfarbene Fibrinogenkonzentrat in Teilmengen von 0,5 ml proportioniert. Diese in ihrer Konzentration standardisierten Fibrinogenlösungen wurden nun bis zur Operation bei - 30 ° C aufbewahrt.

Bei der anderen Klebegruppe benutzten wir autologes Fibrinogen, das wir von jedem einzelnen Tier aus dessen Blut herstellten. Um daraus Fibrinogen zu isolieren und konzentrieren bedienten wir uns der Kryopräzipitationstechnik. Dieses, von POOL und SHANNON (1965) entwickelte Verfahren führt zur Bildung eines Kryopräzipitats, das stark an Fibrinogen und Faktor VIII der Blutgerinnung angereichert ist. Die Methode beruht auf der empirischen Tatsache, daß schnell

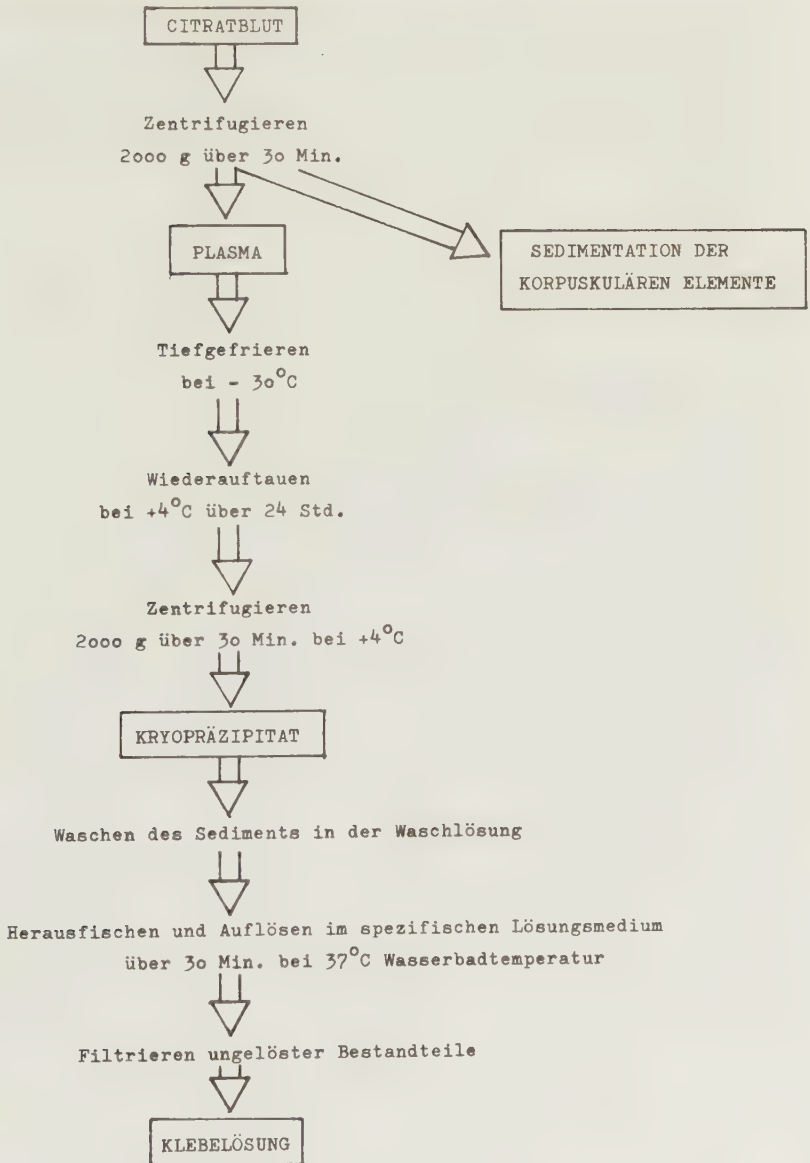
tiefgefrorenes Plasma, das man über 18 - 24 Stunden bei niedriger Temperatur ($+4^{\circ}\text{C}$) auftauen läßt und anschließend über 30 Minuten bei derselben Temperatur mit 200 g abzentrifugiert ein Sediment bildet, das identisch ist mit dem Kryopräzipitat.

Zunächst entnahmen wir mittels Herzpunktion von jedem Kaninchen 10 ml Blut. Auf 1 ml 3,8%ige Na-Citratlösung wurden 9 ml Blut bis zu einem Gesamtvolumen von 10 ml aufgezo-gen. Das Citratblut wurde nun 30 Minuten lang bei Raumtemperatur und 2000 g abzentrifugiert, das Plasma von den festen Bestandteilen des Blutes getrennt. Anschließend wurde es mit Hilfe einer Mischung aus Trockeneis und 95% Äthanol schnell tiefgefroren und bei -30°C für einige Stunden in einer Tiefkühltruhe gelagert. Dem schnellen Tiefgefrieren folgte ein sehr langsamer Auftauvorgang bei $+4^{\circ}\text{C}$ über 18 - 24 Stunden. Bei derselben Temperatur erfolgte jetzt das Zentrifugieren mit 2000g. Nach ca. einer halben Stunde hatte sich am Boden des Gefäßes ein Sediment gebildet, das nach Absaugen der flüssigen Überstandes zunächst im 40fachen Volumen in isotoner NaCl-Lösung, die 0,4 % NaCitrat enthielt, gewaschen wurde. Nach dem Waschen wurde das Kryopräzipitat aus der Lösung gefischt und bei 37°C Wasserbadtemperatur im doppelten Volumen eines speziellen Lösungsmittels aufgelöst. Dieses Medium enthielt pro Liter 13 g Glukose, 3,4 g NaCl und 6,6 g NaCitrat. Ungelöste Bestandteile wurden durch Filtrieren entfernt, die Lösung bei -30°C bis zur Operation tiefgefroren.

Bei einigen Klebungen mit autologem Fibrinogen kam als weitere Substanz Faktor XIII der Blutgerinnung zur Anwendung. Er stabilisiert das Fibringerinnsel durch Quervernetzung der fadenförmigen Fibrinmoleküle gegen Fibrinolyse (BOHN, 1970), (WACHTEL, 1973).

Die heterologen Fibrinogenlösungen wiesen eine standartisierte Konzentration auf. Ihre Bestimmung erfolgte mit Immundiffusionsplatten. Diese waren mit einer Agarschicht und Antifibrinogen beschichtet, die beim Kontakt mit Fibrinogen eine quantitative Konzentrationsmessung durch die immunologische Reaktion erlaubten (BECKER, RAPP, SCHWICK und STÖRIKO, 1968).

SCHEMA ZUR HERSTELLUNG DER AUTOLOGEN KLEBELÖSUNG



Am Auftragungsort entstand durch die Antigen - Antikörperreaktion um die Stanzlöcher herum ein kreisrunder Präzipitationshof. Der Durchmesser dieser Kreisfläche nimmt mit wachsender Fibrinogenmenge bzw. bei gleichem Volumen mit wachsender Konzentration zu. Aus einer speziell erstellten Eichkurve konnten wir mit mehreren Messungen die Konzentration der heterologen Fibrinogenlösung bestimmen. Sie betrug 8,6 g%.

Die autologen Fibrinogenlösungen konnten nicht standartisiert werden. Sie unterlagen, bei gleicher Herstellung des Kryopräzipitats, einer physiologischen Streubreite hinsichtlich ihres Fibrinogengehalts, analog den individuellen Schwankungen des Plasmaspiegels an Faktor I. Um dennoch eine Aussage über die durchschnittliche Konzentration an Fibrinogen in den autologen Lösungen machen zu können, bestimmten wir sie repräsentativ an sechs Tieren photometrisch mittels der Biuret-Methode (RICHTERICH, 1971).

Von den, in beschriebener Weise hergestellten Lösungen wurden jeweils 0,2 ml in 1 ml physiologische Kochsalzlösung gebracht. Dieser wurde 1 ml hochkonzentriertes Thrombin (300 NIH Einheiten / ml) zugesetzt, und das Ganze auf 37 ° C erwärmt. Nach 30 Minuten fischten wir das Fibringerinnsel heraus und lösten es in 1 ml 3%iger NaOH-Lösung. Hiervon wurde nun nach Zugabe von 1 ml Biuret-Reagenz in einem Eppendorf - Photometer die Extinktion bei 546 nm gemessen. Nach Berücksichtigung des Leerwertes sowie der entsprechenden Volumen- und Verdünnungsverhältnisse konnten wir die Fibrinkonzentration der einzelnen Ansätze bestimmen.

Die durchschnittliche Konzentration der autologen Fibrinogenlösungen betrug 2,8 g%.

OPERATIONSTECHNIK

Als Versuchstiere dienten uns Kaninchen der Gewichtsklasse zwischen 3400 - 3800 g. Allen Tieren wurde präoperativ 1 - 1,5 ml Nembutal in die Ohrvene gespritzt. Diese Applikationsart hatte vor der intramuskulären oder intraperitonealen Injektion den Vorteil, daß im Blut schnell ein ausreichender Wirkspiegel für eine schnelle, tiefe Narkose vorhanden war. Diesem Vorteil stand der Nachteil einer Atemdepression gegenüber. Bei Bedarf wurde bis zu einer Maximaldosis von 1 ml /kg Körpergewicht nachgespritzt.

Das Operationsgebiet im Bereich beider Oberschenkel wurde großflächig vom distalen Femurende bis zum Steiß rasiert, restliche Haare mit einer Enthaarungscreme entfernt. Anschließend wurden die Tiere in Bauchlage an allen vier Extremitäten fixiert. Nach der Desinfektion der rasierten Stellen mit Merfentinktur erfolgte die Abdeckung des Operationsgebiets. Die Klebelösungen wurden gebrauchsfertig bereitgestellt.

Am seitlichen Oberschenkelrand legten wir den 6 - 8 cm langen Hautschnitt in einer gedachten Verbindungslinie zwischen Steißbein und distalem Femurende. Blutungen aus angeschnittenen Hautgefäßen wurden durch Elektrokoagulation gestillt. Zwischen dem lateralen Rand des m. biceps femoris und dem m. vastus lateralis eröffneten wir die Oberschenkelfaszie. Nach Erweiterung des Faszienchnittes auf ca. 5 cm und sorgfältiger, stumpfer Präparation der Muskelloge, konnten wir in der Tiefe den Stamm des n. ischiadicus ausmachen. Mit Hilfe zweier Spreizer, die in die Muskelloge eingebracht wurden, konnte der Nerv über eine Länge von 5 - 6 cm dargestellt werden. Nach sorgfältiger Mobilisierung aus seiner bindegewebigen Fixierung, wurde der Nerv etwa in der Mitte des Operationsfeldes mit einer Schere glatt durchtrennt. Infolgedessen wichen die Nervenstümpfe circa 1 - 2,5 cm weit auseinander.

Um den entstandenen Defekt spannungsfrei durch Einfügen eines autologen Transplantats decken zu können, wurde dieses in entsprechender Technik von der Gegenseite entnommen. Die Länge des Transplantates überschritt um ca. 15 % die Dehisenzlänge (MAURER, SCHMID 1971), damit die Schnittflächen der Anastomosenstellen so angefrischt werden konnten, daß vorquellende Axonbündel reseziert und plane Schnittflächen geschaffen wurden. Dieses Auffrischen wie auch die Kürzung des Transplantates auf die exakt benötigte Länge erfolgte mit einer Rasierklinge. Anschließend wurde das autologe Transplantat so eingepaßt, daß die Kontaktflächen spannungsfrei aneinander lagen. Es erfolgte die Adaption der Faszikelgruppen des n. tibialis und des n. peroneus, der dünne ramus cutaneus wurde nicht aneinandergefügt. Alle beschriebenen Manipulationen erfolgten unter dem Operationsmikroskop.

Bis hierher war das operative Vorgehen bei allen Tieren gleich. Je nach Art der Fixierung von proximaler und distaler Anastomose gegen mechanische Zugwirkung zerfiel jetzt das Operationsgut in zwei große Gruppen: Die Naht- und die Klebgruppe.

Bei 20 Tieren kam die konventionelle Technik der epineuralen Knopfnah zur Anwendung. Jede Anastomosenstelle wurde mit jeweils zwei Nähten in der adaptierten Stellung fixiert. Um möglichst schonend und sorgfältig zu arbeiten benutzten wir Operationsmikroskop und mikrochirurgisches Instrumentarium.

Bei der zweiten Gruppe bedienten wir uns der Klebung mit den beschriebenen Lösungen, um die spannungsfrei aneinanderliegenden Kontaktflächen des Transplantats mit den Nervenstümpfen in der adaptierten Stellung zu halten. Bei dieser Technik der Plasmanah wurden die Klebelösungen in Einmalspritzen aufgezogen und mittels einer großkalibrigen Kanüle, die auch die Passage stark visköser Lösungen zuließ, aufgetropft. Der Operationstisch wurde im entsprechenden Winkel geneigt, um das Operationsfeld in eine möglichst horizontale Stellung zu bringen und damit ein unerwünschtes Abfließen der Klebelösungen zu vermeiden.

Auf jede Anastomose wurden 1 - 2 Tropfen Thrombinlösung (300 Einheiten / ml) aufgetropft, die mit dem Fibrinogenkonzentrat binnen kürzester Zeit einen durchsichtigen, gelatineartigen Fibrinclot bildeten. Die hohe Thrombinkonzentration wählten wir, um eine optimale Fibrinbildung und damit Klebewirkung zu erreichen, welche nicht von Antithrombinen oder fibrinolyseaktiven Stoffen beeinträchtigt werden konnte.

Die Fibrinogenkomponente unterschied die Nervenklebungen nochmals in zwei Untergruppen. Bei der einen Hälfte verwandten wir die mittels Kryopräzipitation gewonnenen autologen Fibrinogenkonzentrate, die eine durchschnittliche, nicht standardisierte Faktor-I-Konzentration von 28 mg / ml aufwiesen. Diese Lösung wurde jeweils in 6 - 8 Tropfen auf die Epineuralhülle des eingepassten Transplantats aufgetragen, von oberhalb der proximalen bis unterhalb der distalen Anastomose. Das nach Zugabe von Thrombin entstandene Fibringerinnsel legte sich wie ein dünner Film über das gesamte Transplantat inklusive beider Anastomosenstellen. Es haftete sich so zugfest der Fläche an, daß es nur durch grobe mechanische Einwirkung entfernt werden konnte. Da während der Klebung der Kontakt der Klebelösungen mit dem umliegenden Gewebe nicht verhindert wurde, konnte sich der Fibrinclot während der Fibrinvernetzung auch am Bindegewebe beidseits des Nerven festheften. Einem Teil dieser mit autologem Faktor-I geklebten Nerven wurden einige Tropfen Faktor XIII zugesetzt, der eine weitere Stabilisierung des Fibrinclots bewirken sollte.

Bei der zweiten Klebegruppe kamen die heterologen Fibrinogenlösungen zur Anwendung. Sie besaßen eine standardisierte Fibrinogenkonzentration von 86 mg / ml, waren also dreimal höher konzentriert als die Kryopräzipitatlösungen. Infolge ihrer sehr viskösen Konsistenz mußten sie im Wasserbad auf 37°C erwärmt werden, bevor sie aufgetropft werden konnten.

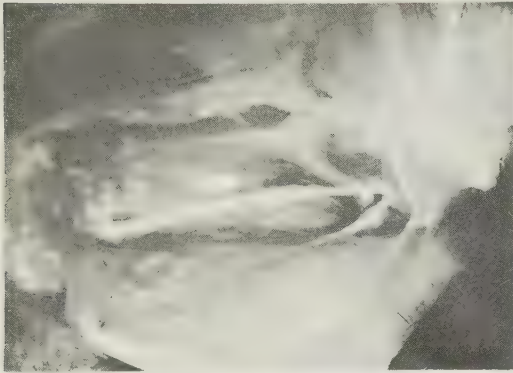
Gegenüber der ersten Klebegruppe wurde die Technik leicht modifiziert. Zum einen wurde auf jede Anastomose nur 1 - 2 Tropfen der heterologen Lösung aufgebracht, sodaß das Fibringerinnsel ausschließlich die Anastomosenstellen bedeckte und das Transplantat freiließ. Zum anderen wurde der Kontakt der Klebelösungen mit dem umgebenden Gewebe durch Unterlegen eines Streifens Aluminiumfolie verhindert, sodaß ein primäres Festheften des Fibrinmantels nur mit der Epineuralhülle des Nerven möglich war. Nach Ausbildung des Fibrinfilms, der diesmal eine wesentlich kleinere Fläche bedeckte, wurde die Alufolie vorsichtig entfernt. Auf Verwendung von Faktor XIII wurde in Hinblick auf die hohe Fibrinogenkonzentration verzichtet.

Bei den beschriebenen Operationen wurde die Hälfte mit autologen, die andere Hälfte der Tiere mit heterologen Nerventransplantaten versorgt. Dabei handelte es sich um humanes, lyophilisiertes Nervengewebe, das zuvor in physiologischer Kochsalzlösung aufgeweicht worden war. Die Anastomosenstellen wurden genauso wie bei den autologen Transplantaten genäht bzw. autolog oder heterolog geklebt.

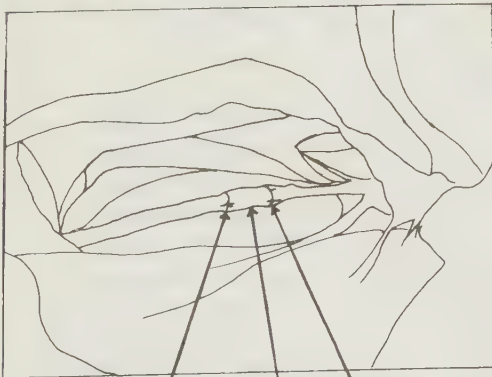
Postoperativ wurden die operierten Extremitäten durch keinerlei Maßnahmen ruhiggestellt. Nach 8 Tagen wurden die Fäden der Hautnaht gezogen. Während der dreimonatigen Überlebenszeit wurden die Tiere in Einzelkäfigen gehalten.

MAKROSKOPISCHE BEGUTACHTUNG

Am Ende der mindestens 80-tägigen Überlebenszeit wurden die Nerven zur histologischen Untersuchung entnommen. Schon bei ihrer Präparation zeigten sich zwischen den einzelnen Gruppen deutliche Unterschiede hinsichtlich der bindegewebigen Ummauerung der Nerven.



Die genähten autologen Transplantate waren sehr leicht zu mobilisieren und wiesen praktisch keine Bindegewebsreaktion in der Umgebung der Nerven auf. Lediglich die Nahtstellen waren geringfügig verdickt. Diese leichten kolbigen Auftreibungen an beiden Anastomosenbereichen fanden sich jedoch bei allen autologen und lyophilisierten Implantaten mehr oder weniger ausgeprägt.



distale Nahtstelle

proximale Nahtstelle

autologes Transplantat

Die genähten Lyophilisate wiesen im Anastomosenbereich wesentlich stärkere Verdickungen auf, das Transplantat selbst erschien verschmälert.

Die Klebgruppe zeigte insgesamt stärkere Verbackungen des Nerven mit dem umgebenden Gewebe, jedoch waren sie nach Art und Menge des verwandten Klebematerials unterschiedlich weit ausgedehnt.



Bei den mit heterologem (humanem) Fibrinogenkonzentrat geklebten Nerven fanden sich hartnäckige Verwachsungen praktisch nur an den Anastomosenstellen. Die autologen Transplantate erschienen an den Klebestellen mehr oder weniger verdickt, es fand sich in jedem Fall eine Kontinuität im Nervenverlauf.



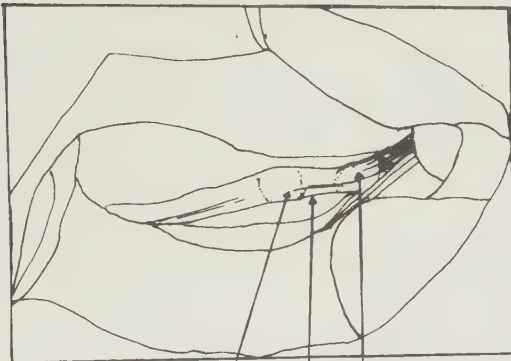
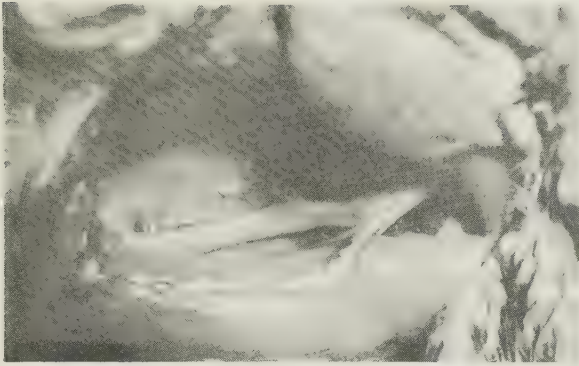
distale Klebestelle

proximale Klebestelle

autologes Transplantat

Bei den lyophilisierten Transplantaten dagegen fanden wir sehr starke Verdickungen und Verwachsungen, an den Stümpfen schienen sich Neurome gebildet zu haben.

(heterologes Fibrinogen)



distale Klebestelle proximale Klebestelle
autologes Transplantat
Klebung mit autologem Fibrinogen

Bei der Klebe-
gruppe mit autolo-
gem Faktor I waren
die Verbackungen
mit der Umgebung
wesentlich ausge-
dehnter und um-
faßten das ganze
Transplantat. Auch
die Verdickungen
waren hier nicht
auf die Anastomo-
senstellen be-
schränkt, sondern
erstreckten sich
über den gesamten
Implantatsbereich.
Außerdem fanden
wir bei dieser
Gruppe vermehrt
Fettgewebe in der
Umgebung.
Dabei schnitten
die Nerven mit
autologen Trans-
plantaten wesent-
lich besser ab,
als die lyophi-
lisierten.

Es ist anzunehmen, daß die unterschiedliche Ausdehnung der binde-
gewebigen Verwachsungen wesentlich mit den verschiedenen Mengen
aufgebrachter Klebesubstanzen zusammenhängt, bedingt durch die
Größe der Kontaktflächen des Fibrinclots mit dem Bindegewebe.
Faktor-XIII-Zugabe führte zu keiner faßbaren Änderung.

Bei der Verwendung lyophilisierter Transplantate kam es, meist wenn die Anastomosenstellen mit Hilfe der Klebetechnik fixiert waren, zu Dehiszenzen. Bei den autologen Transplantaten dagegen konnten wir makroskopisch keinen derartigen Befund erheben. Die bindegewebige Verwachsung bei den Lyophilisaten entsprach den autologen Implantaten, je nach angewandter Operationstechnik. An den distalen und proximalen Nervenstümpfen imponierten großkolbige Amputationsneurome, aus denen strahlenförmig Faserbündel diffus ins umgebende Gewebe wuchsen. Keines dieser Faserbündel hatte zu einem entsprechenden Faserzug aus dem anderen Nervenstumpf regelrechten Anschluß gefunden. An den Anastomosenstellen waren zahlreiche Dehiszenzen aufgetreten.



HISTOLOGISCHE TECHNIK

Zur histologischen Begutachtung wurden die Nerven über ein möglichst großes Stück freipräpariert. Dabei mußten zum Teil starke Verbackungen mit der Umgebung vorsichtig gelöst werden. Bei jedem Nervenpräparat wurden einige cm distal und proximal des Transplantats mit entnommen. Die Nerven wurden beschriftet und auf Papierstreifen gestreckt fixiert in 4%iger Formollösung aufbewahrt. Anschließend wurde über eine Behandlung in folgenden Stufen die Einbettung in Paraffin vorbereitet:

Wasser	6 Stunden
Alkohol 70 %	1 Stunde
Alkohol 70 %	2 Stunden
Alkohol 96 %	2 Stunden
Alkohol 96 %	2 Stunden
Alkohol 100 %	2 Stunden
Alkohol 100 %	1 Stunde
Methylbenzoat	4 Stunden
Benzol	15 Minuten
Benzol	15 Minuten
Paraffin	2 Stunden
Paraffin	2 Stunden

Nach der Kennzeichnung der Nerven am distalen und proximalen Abschnitt erfolgte die Einbettung in Paraffin und die Ausblockung.

Das Schneiden der Nerven am Mikrotom erwies sich als besonders schwierig, da die parallel verlaufenden Nervenfasern die Schnitte sehr leicht zerreißen ließen.

Die Nerven wurden mit einer Schnittdicke von 3 bis 6 μ in Serienschnitten aufgearbeitet.

Bei der Färbung der Präparate war uns die Differenzierung zwischen Nerven- und Bindegewebe besonders wichtig. wir führten eine Reihe von Probefärbungen durch: Azanfärbung (Azokarmin - Anilinblau), Bindegewebe erscheint blau, Zellkerne, Zytoplasma rötlich; Hämatoxylin - Eosin - Färbung, Zytoplasma erscheint blau, Bindegewebsfasern etc. rosa; Sudan III, Spezialfärbung für Fettzellen, sie erscheinen orange; Nissl-Färbung, Spezialfärbung für Nervengewebe mit Methylenblau; Carminfärbung nach Gerlach, Zytoplasma der Nervenzellen rot; Versilberung nach Bodian, Nervenfasern erscheinen schwarz; Färbung nach van Gieson (Eisenhämatoxylin - Pikrinsäure - Säurefuchsin), Kerne erscheinen schwarzbraun, Bindegewebe rot, Zytoplasma gelblich, Nervengewebe gelbgrün.

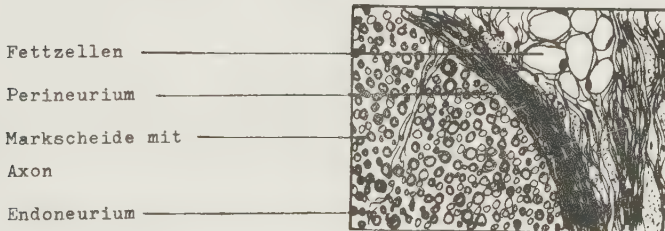
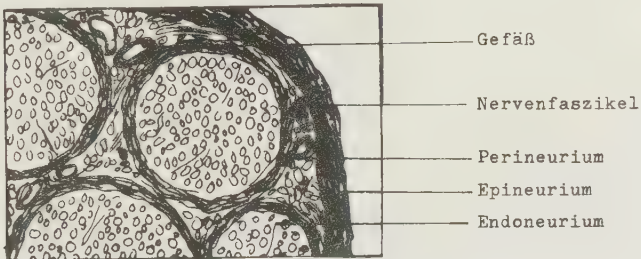
Bei der van-Gieson-Färbung erschien uns die Unterscheidung zwischen Nervengewebe und bindegewebiger Umscheidung am deutlichsten. In mehreren Versuchsreihen wurden die Zeiten der Standardangabe von uns so verändert, daß wir bei folgendem Färbevorgang die beste Differenzierung erhielten:

Xylol	5 Minuten
Xylol	5 Minuten
Alkohol 100 %	1 Minute
Alkohol 100 %	1 Minute
Alkohol 96 %	1 Minute
Alkohol 96 %	1 Minute
Weigerts Hämalaun	10 Minuten
Leitungswasser	5 Minuten
0,1 n HCl	10 Sekunden
Leitungswasser	5 Minuten
Aqua dest.	1 Minute
van Gieson - Lösung	3 Minuten
96 % Alkohol	20 Sekunden
96 % Alkohol	20 Sekunden
100 % Alkohol	1 Minute
100 % Alkohol	1 Minute
Xylol	1 Minute
Xylol	2 Minuten

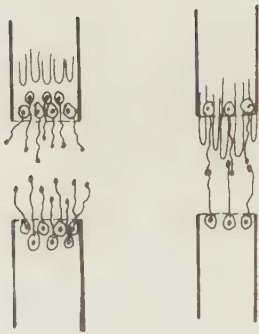
HISTOLOGISCHE BEGUTACHTUNG

Um über Erfolg bzw. Mißerfolg der Nervennaht und Nervenklebung eine Aussage treffen zu können, versuchten wir strukturell faßbare Kriterien zu finden, die eine qualitative Aussage über die Präparate möglich machten.

Wir bedienten uns der SUNDERLANDSCHEN Nomenklatur (1965), die in den beiden folgenden Schemata verdeutlicht wird.



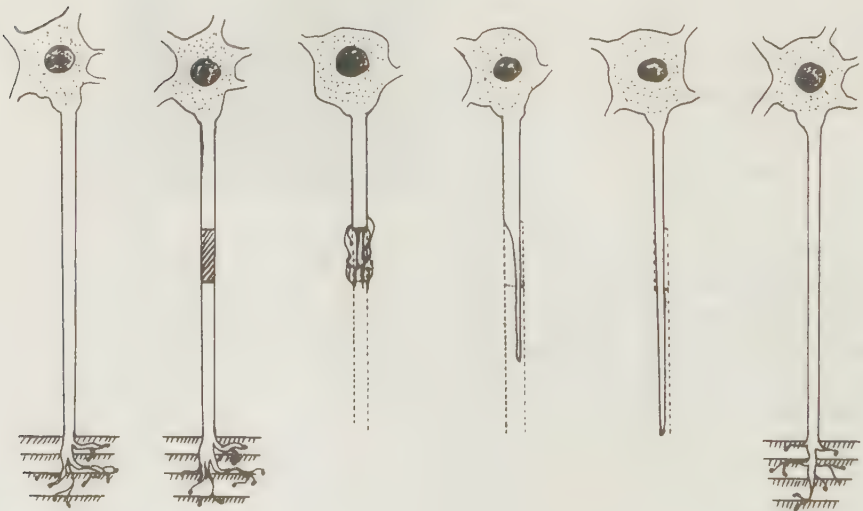
Die Reaktionen, die nach der Operation im distalen Stumpf sowie im Transplantat als Wallersche Degeneration, und im proximalen Stumpf als traumatische Degeneration ablaufen, wurden eingangs beschrieben. Die folgende regenerative Phase zerfällt in zwei Teile: Einen bindegewebigen und einen axonalen Teil. (RAMON und CAYAL, 1928).



Bei den Reaktionen des neuralen Stütz-Bindegewebes kommt es nach einer vollständigen Nervendurchtrennung physiologischerweise zur Proliferation an beiden Stümpfen. Dabei spielen vor allem die vom distalen Stumpf von den Schwannschen Zellen gebildeten Bindegewebsfasern - die Büngnerschen bzw. Schwannschen Bänder - eine wesentliche Rolle. Treffen diese bindegewebigen Stränge des proximalen und distalen Stumpfes

aufeinander, so können sich die von proximal nach distal vorschiebenden Axone an diesen Strängen orientieren und es kommt zu einem geordneten Wachstum.

Schematische Darstellung der Regenerationsphasen nach Neurotmesis: Einfügen eines Tranplantates, Auswachsen der Büngnerschen Bänder, Neubildung der Axone von der zentralen Nervenzelle aus, vollständige Regeneration des peripheren Nerven.



Die Wiederherstellung und die Reaktionen der peri-, endo- und epineuralen Hüllen ist für die Güte der Regeneration von ausschlaggebender Bedeutung. Allgemein führen nach DENNY BROWN (1946), LEHMANN und HAYES (1967) sowie YOUNG, HOLMES und SANDERS (1940) Disorganisationen in der Restitution des nervalen Bindestützgewebes zu mangelhaften axonalen Regeneraten. Neben diesen notwendigen physiologischen Bindegewebsreaktionen sind überschießende Bildung von fibrösem und Granulationsgewebe im Sinne einer "Anastomosennarbe" (NIGST, 1955) unerwünscht und schädlich für die Funktionstüchtigkeit.

Wir untersuchten bei unseren Nervenpräparaten:

Dicke und Kontinuität des Epineuriums,

Stärke und Verlauf der Perineuralschläuche,

Granulationsgewebsbildung,

zelluläre Infiltrate,

Fremdkörperreaktionen und Organisierung bzw. Demarkation dieser Areale, endoneurale Bindegewebsvermehrung,

Einengung des Anastomosenbereichs durch narbige Strikturen,

Einwachsen von Faserzügen in die Anastomose.

Neben diesen Reaktionen interessierte uns das histologische Bild der Axonregenerate an der proximalen und distalen Anastomose wie auch im Transplantatbereich. Waren überhaupt Axone durchgesprosst, lagen sie dicht beieinander oder waren sie durch vermehrte endoneurale Faserstrukturen aufgelockert? Wieviele Fettzellen im Sinne einer degenerativen Veränderung lagen in den einzelnen Nervenabschnitten vor? Kam es zur Ausbildung von endoneuralen Fibrosen?

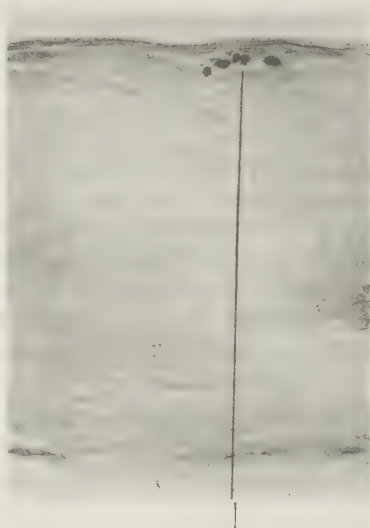
Letztlich erschien uns für eine gute Funktionsrückkehr die Ausrichtung der Nervenfasern wesentlich, d. h. verliefen die Fasern parallel oder ungeordnet, kam es zum Ausbrechen aus Peri- bzw. Epineuralhüllen, wurden die Axonbündel auseinandergedrängt oder durch Bindegewebe eingeschnürt? Fanden sich Axonknäuel im Epineurium, kam es zur Ausbildung von Neuromen?

Die Verwendung lyophilisierter Transplantate führte in keinem Fall zu Funktionsrückkehr und Regeneration, sowohl bei den geklebten wie genähten Nerven kam es zur Ausbildung von Amputationsneuomen. In der folgenden histologischen Befundung werden daher nur noch die autologen Transplantate der verschiedenen Operationstechniken miteinander verglichen.

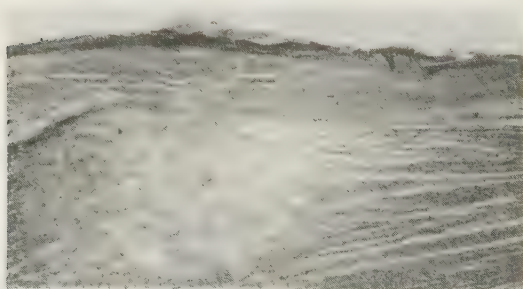
Bei allen Nerven fand sich unterschiedlich stark ausgeprägte Vermehrung und Abberation des Nervenbindegewebes. Zunächst zur epineuralen Hülle:

Bei den Nervennähten war sie am allerwenigsten - wenn überhaupt - verdickt, meist nur im Anastomosenbereich. Bei dieser Gruppe hing das Ausmaß der Reaktion noch wesentlich davon ab, wie weit außen im Epineurium genäht wurde, und ob eine zusätzliche Traumatisierung durch den Verlauf der Naht im axonalen Gewebe bestand.

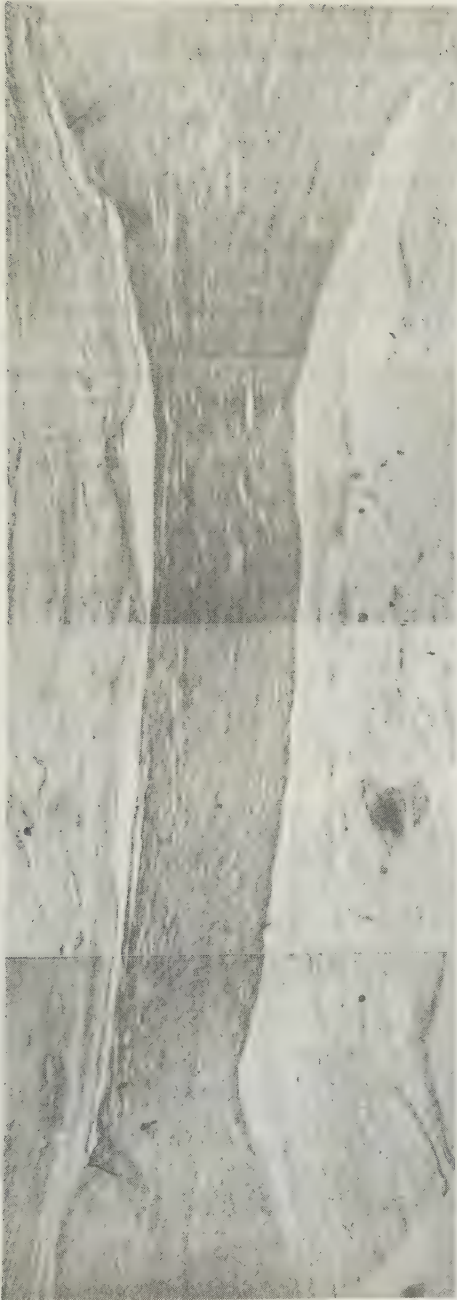
Im nebenstehenden Bild wurde die Naht sehr weit außen durchgeführt, das Epineurium ist nicht verdickt, es sind keine narbigen Veränderung vorhanden.



angeschnittene Fäden



Distale Anastomose einer Naht:
Das Epineurium ist zart, es sind keine bindegewebigen Einwachsungen zu finden.



FOTOMONTAGE
EINES AUTOLOG
GEKLEBTEN
NERVEN

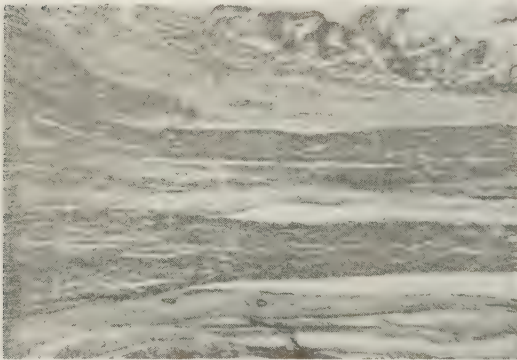
proximale
Anastomose

deutliche Prolif-
eration des binde-
gewebigen Epineuriums
im Transplantatbe-
reich. Durch man-
schettenförmige
Einengung entlang des
gesamten Transplan-
tats Hemmung des
Breitenwachstums

distale
Anastomose

Vermehrung von Fett-
zellen und anderen
zellulären Elementen
im Epineurium

Ganz anders lagen die Verhältnisse bei der Klebgruppe. Hier bestand bei allen untersuchten Nerven eine deutliche Wucherung der äußersten Nervenhülle. Sie nahm bei den homologen Klebungen solche Ausmaße an, daß der gesamte Transplantatbereich - noch proximal und distal über die Anastomosen hinausreichend - von einer bindegewebigen Manschette eingemauert war. Dies zog eine Einschnürung des Nervenquerschnitts nach sich, und infolgedessen eine Hemmung des Breitenwachstums. Bei den heterolog geklebten Nerven fanden sich diese Vorgänge vorwiegend im Bereich der Anastomosenstellen.



Proliferation
des Perineuriums
und des
Epineuriums.
Deutliche Ein-
engung des Ner-
venquerschnitts.
(Homologe Klebung)

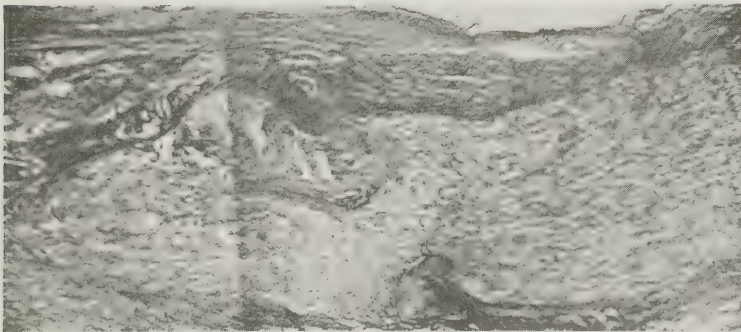
Es fanden sich teilweise so stark ausgeprägte ringförmige Strikturen, daß es fast zur Obliteration eines Faszikels kam. (Bild aus dem Randgebiet eines Nerven, der in der Mitte sich als durchgängig erwies).



Die fibrotischen Veränderungen des Epineuriums beschränkten sich jedoch nicht nur auf proliferative Vorgänge, sondern zeigten auch infiltrative Tendenzen. Unterschiedlich viel und verschieden weit drangen bei etlichen Nerven bindegewebige Stränge zwischen die Anastomosenstellen. Sie führten zu einer weiteren Einengung, Irritation und zu Schwund des funktionellen Nervengewebes. Bei den genähten Nerven war diese Einsprossung deutlich geringer ausgeprägt und hing von der Lage der Nähte ab. Bei den geklebten Nerven fanden sich diese Alterationen häufiger, am zahlreichsten in der Gruppe mit autologen Klebesubstanzen und ohne Faktor-XIII-Zusatz versorgten Transplantate, (siehe Fotos).

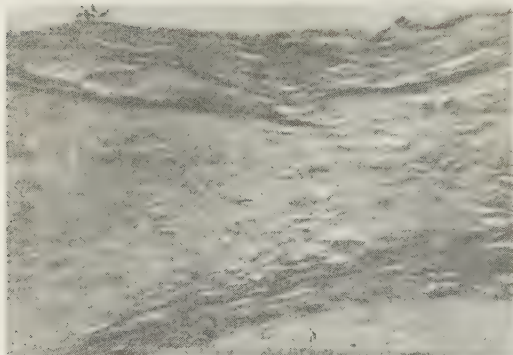


Einsprossung von Narbengewebe
Unterbrechung des Epineuriums



Einsprossendes Bindegewebe im Anastomosenbereich mit Bindegewebs-
zügen im Endoneurium bei homologer Klebung ohne Zusatz von Faktor XIII

In der Gruppe die mit autologem Fibrinogen und ohne Faktor XIII geklebt worden war, fanden wir die Abgrenzbarkeit des epineuralen Mantels vom intra- und extraneuralen Gewebe, sowie die Kontinuität des Epineuriums am geringsten ausgeprägt.



Autologe Klebung
Bindegewebige Infiltration im
Bereich der Anastomosenstelle

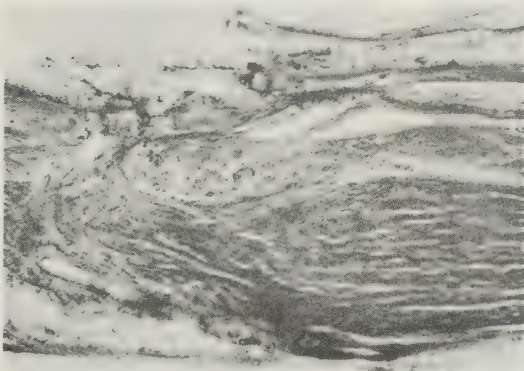
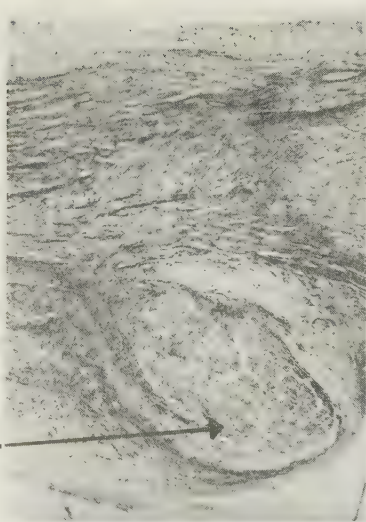


Autologe Klebung
Einstülpung des Epineuralmantels

Die Bindegewebsvermehrung betraf auch die beiden anderen Teile des Nervenstützgewebes: Das Peri- und das Endoneurium. Wie in den vorausgegangenen Befunden unterlagen dabei die Nervenklebungen erneut dem Vergleich mit der Nahtgruppe. Das peri- und endoneurale Bindegewebe war dabei zum Teil diffus vermehrt, teils fanden sich septenförmige Bindegewebszüge, die mit dem Epineurium in Verbindung standen. Andere geklebte Nerven wiesen im Anastomosenbereich längsgerichtete, parallele Faserzüge auf. Hinsichtlich Proliferation, Infiltration und Disorganisation fanden sich in den Anastomosenbereichen der geklebten Nerven die auffälligsten Befunde. Bei den genähten Nerven waren derartige Veränderungen in weitaus geringerem Maße anzutreffen.

Eng verknüpft mit diesen Veränderungen waren die Aberrationen im axonalen Teil der Regenerate. Bei allen Nerven kam es zu einer Durchsprössung der sich vom zentralen Stumpf aus vorschiebenden Axone, wenn auch manchmal durch die bindegewebigen Hindernisse eine Obliteration des Faszikels drohte.

Foto rechts: Autologe
Klebung, Neurinom im
Randbereich, Disorgani-
sation der Axonregenerate.



Heterologe
Klebung:
Bindegewebige
Infiltration
und endo-
neurale Pro-
liferation

Die Dichte der Axone wurde durch Fettzellen, Faserzelelemente und Faserzüge aufgelockert. Bei allen Präparaten fand sich vor der proximalen Anastomosenstelle eine größere Dichte an funktionstüchtigen Nervenfasern als nach der distalen.

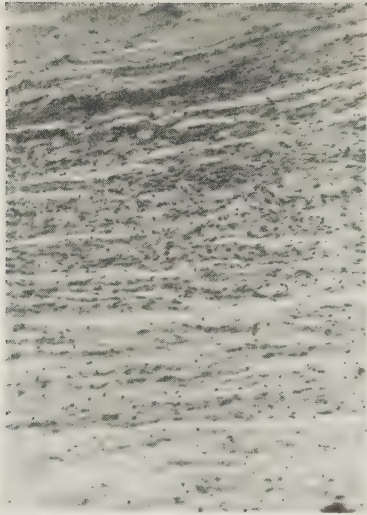
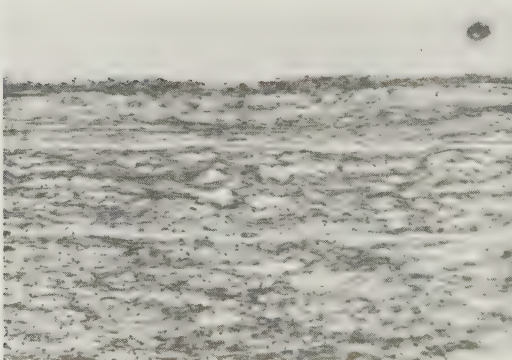


Foto oben: Heterologe Klebung,
epineurale Zellproliferation,
Auflockerung der Axone durch
Fettzellen und Faserzüge

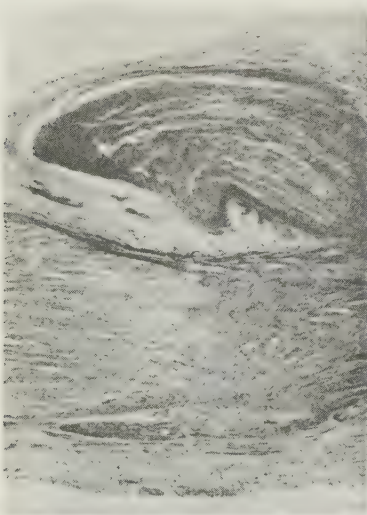
Diese Auflockerung peripher der distalen Anastomose war durch eine Zunahme an Fettzellen und Faserzelelementen bedingt. Ebenso zeigten die Axone - besonders ausgeprägt bei den Klebungen - in den zentralen Anteilen der Nervenschnitte dichtere Regenerationsbilder als in den epineuralwärts gelegenen Zonen. Hierbei kam vor allem die unscharfe Begrenzung der bindegewebigen Hüllen gegen die axonalen Strukturen und die infiltrierenden Bindegewebszüge bei den geklebten Nerven zum Tragen.

Betrachtet man die Organisation der regenerierten Axone, so findet man im optimalen Fall völlige Parallelität der Nervenfaserbündel.

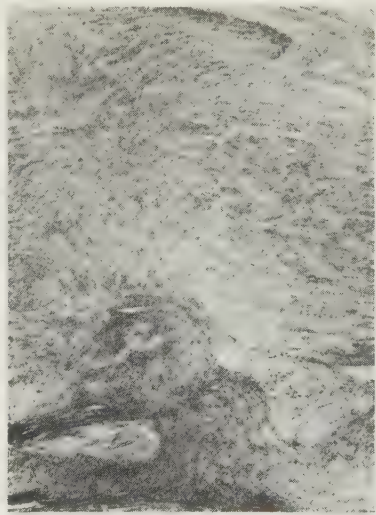


Autologe Klebung:
Distaler Transplantatbereich, es findet sich eine gute strukturelle Anordnung der Axone und des Epineuriums

Vergleicht man die Nerven unter diesem Aspekt, so finden sich deutliche Differenzen. Ein Tatbestand ist dabei auffällig: Je geringer die Abweichungen waren, welche die bindegewebigen Reaktionen qualitativ und quantitativ mit sich brachten, desto besser war auch die Reorganisation der Axonbündel. Die in dieser Hinsicht schwerwiegendsten Disorganisationen lagen bei den vom Epineurium aus infiltrierenden Faserzügen vor. Zu beträchtlichen Alterationen führten auch epineurale Einstülpungen und mit dem äußeren Nervenmantel in Verbindung stehende, septenförmig einstrahlende Bindegewebsstränge. Die histologischen Bilder reichten dabei von einer Auffächerung oder Verdrängung der Axonstränge bis zu neurinomartig imponierenden Auftreibungen des Nerven. Auch endoneural gelegene fibrotische Veränderungen stellten für die Axonregenerate Wachstumshindernisse dar, denen sie ausweichen mußten.



Autologe Klebung:
Epineurale Einstülpung
als Hindernis für die
Axonregeneration



Heterologe Klebung:
Einengung durch infiltrie-
rendes Bindegewebe
"Anastomosennarbe"

Hierzu gehören auch die durch Traumatisierung, wie beispielsweise Zug einer zu straffen Naht entstandenen Narbenbildungen. Allerdings waren sie weitgehend lokal begrenzt und ließen die longitudinale Ausrichtung der zentralen Axonbündel unberührt.

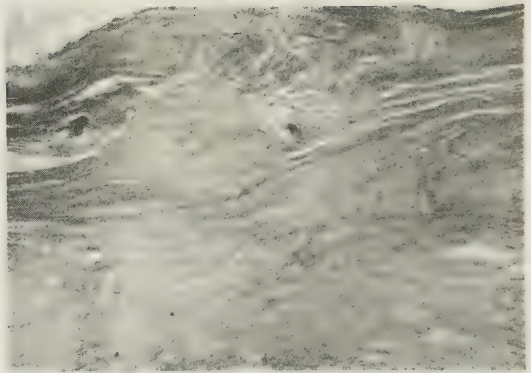
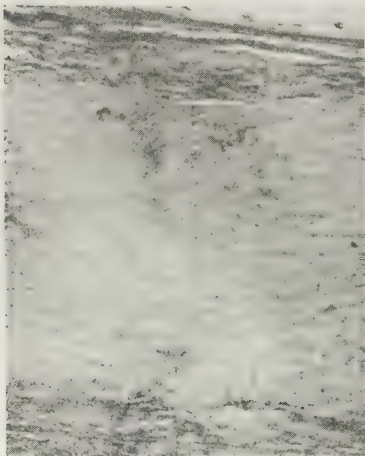


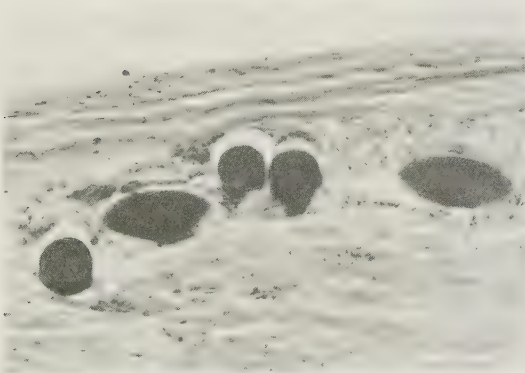
Foto: Naht im Anastomosenbereich, angeschnittene Fäden, dazwischen Narbenbildung.

Bei fast allen Nerven kam es im Anastomosenbereich zu einer leichten Auffächerung der Axone, auch wenn keine ersichtlichen Hindernisse vorlagen. An diesen Stellen fanden sich bei den Klebungen vermehrt Axonbündel im epineuralen Bereich, die deutlich bindegewebig organisiert waren.



Bei etlichen Klebungen konnten wir zwar einen Einbruch von Bindegewebe in das Anastomosengebiet beobachten, es kam aber nur bei einigen mit autologem Faktor I und ohne Faktor XIII geklebten Nerven zu einem direkten Ausbruch von Nervenfasern aus dem Epineuralschlauch. Hierbei war die Kontinuität des Epineuriums unterbrochen. Bei den mikrochirurgischen Nähten hatten wir keinen derartigen Befund.

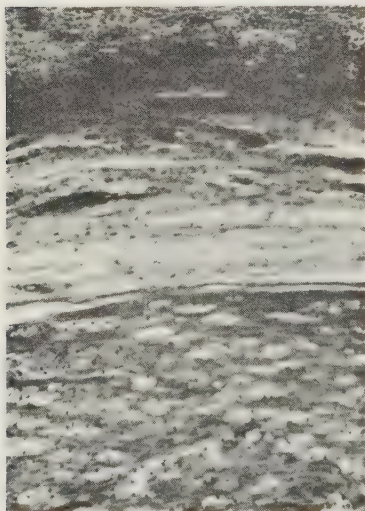
Letztlich untersuchten wie die operierten Nerven noch auf ihren Gehalt an zellulären Infiltraten. Es handelte sich dabei im Wesentlichen um Fettzellen, Faserzellen und die verschiedenen Zelltypen einer entzündlichen Reaktion (Leukozyten, Monozyten, Makrophagen, polymorphkernige Riesenzellen). Die letztgenannten Zelltypen fanden sich im Sinne einer Fremdkörperreaktion bei den Nervennähten nur direkt um das körperfremde Nahtmaterial herum (siehe Foto).



Ausschnitt aus dem Nahtbereich:
Geringe, lokal begrenzte Abwehrreaktion mit zellulärer Infiltration. Die Naht liegt gut weit epineural.
Angeschnittene Fäden

Bei den geklebten Nerven fanden sich jedoch deutlichere zelluläre Infiltrationen im epineuralen Bereich, als Ausdruck einer bindegewebigen Organisation der Fibrinmanschetten durch Granulationsgewebe. Abszedierungen und Sequesterbildungen konnten nicht beobachtet werden.

Bei zahlreichen Klebungen war auch der Fettgehalt des epineuralen und perineuralen Gewebes vermehrt. Die Dichte der faserbildenden Zellen nahm bei allen Nerven von proximal nach distal etwas zu, wie auch die Regenerate physiologischerweise an diesen Zellelementen reicher sind. Bei den Klebungen fand sich zusätzlich eine deutliche Zunahme dieser Zellen epineuralwärts, was einer vermehrten Faserproduktion dieser Bereiche entspricht. Hinsichtlich der Fettzellzahl fand sich ebenso bei allen Präparaten ein vermehrtes Auftreten in den distalen Abschnitten.



Epineurium: Dichte zelluläre Infiltrate, Organisierung der Fibrinmanschette durch Granulationsgewebe

Perineurium: Verdickung durch vermehrte Einlagerung von Faser- und Fettzellen

Axonaler Bereich:
Auflockerung durch eingelagerte Fettzellen und Faserzelemente

Zwischen den Nähten und Klebungen traten geringfügige Unterschiede bezüglich des Gehalts an Fettzellen auf: Bei der Klebegruppe schien die Axondichte durch diese Elemente vermehrt im Sinne einer fettig-degenerativen Reaktion aufgelockert. Besonders die Anastomosen- und Transplantatbereiche fielen diesbezüglich auf.

Faßt man die wesentlichen Befunde der histologischen Begutachtung zusammen, so ergibt sich folgendes Bild:

Hinsichtlich der Bindegewebsreaktionen zeigten sich die stärksten epineuralen Proliferationen bei der Klebgruppe, hier die weitläufigsten bei der Gruppe mit autologen Fibrinogenlösungen. Infiltrationen von Bindegewebe in die Anastomosenstellen traten am häufigsten bei den autolog geklebten Nerven auf, die ohne Faktor-XIII-Zusatz geblieben waren. Bei den Nähten zeigten sich narbige Granulationen dann um die Nahtmaterialien, wenn diese zu weit endoneural lagen. Die Kontinuität des Epineuralmantels war am häufigsten bei

		Naht	Klebung heterolog	Klebung autolog	+ Faktor XIII	-Faktor XIII
Epineurale Prolifera- tion	+++	-	2	5	1	4
	++	1	10	7	4	3
	+	9	-	-	-	-
Infiltra- tion von Bindegewebe Epineurium- einstülpung	++	-	2(I)	6(I)	1(I)	5(I)
	+	2(E)	4(E)	5(E)	3(E)	2(E)
	0	8	6	1	1	-
Peri- und endoneurale Bindegewebs- vermehrung	++	-	2	6	2	4
	+	3	10	6	3	3
	0	7	-	-	-	-
Abgrenzbar- keit Epineu- rium/Axone	+	9	10	8	4	4
	0	1	2	4	1	3
Kontinuität des Epineu- ralmantels	+	10	12	7	5	2
	0	-	-	5	-	5

den autologen Klebungen ohne Faktor XIII unterbrochen. Peri- und endoneurale Proliferationen sowie schlechte Abgrenzbarkeit des Epineuriums gegen das Axongewebe fanden sich nur in der Klebegruppe.

Bei der Beurteilung der Regenerate fand sich eine Beziehung von geordnetem und ungeordnetem Axonwachstum zu den Alterationen des Nervenstützgewebes. Die Ergebnisse der Nervennahte waren besser als die der Klebungen. Am schlechtesten regenerierten sich die Axone bei Klebung mit autologem Faktor I und ohne Faktor XIII. Hier fand sich Infiltration von Bindegewebe, Ausbruch von Nervenfasern aus der Epineurialhülle. Bei Einstülpung des Epineuriums kam es teilweise zu neuri-nomartigen Veränderungen des Faszikels.

		Naht	Klebung heterolog	Klebung autolog	+Faktor XIII	-Faktor XIII
Durchschneidung von Axonen	++	10	0	8	4	4
	+	-	2	4	1	3
Axondichte distale Axotomie	++	10	2	6	2	3
	+	-	1	5	2	4
Disorganisationen		2	5	5	3	5
Mikro-neurinome		-	2	4	1	3
Epineurale Axonbündel		-	2	7	2	5
Ausbrechende Nervenfasern		-	-	2	-	2
Nervenschneidungs- einengung extern Nardensstruk- turen endo- neural	++	-	2	5	3	5
	+	2	0	4	2	2
	0	1	-	-	-	-

Im Hinblick auf zelluläre Elemente zeigte sich im Fettzellgehalt innerhalb des Axongewebes ein geringer Unterschied. In der Klebegruppe fanden wir diesen Zelltyp vermehrt peri- und epineural. Faserzelelemente traten bei den Klebungen gehäuft im epineuralen Bereich auf. Granulationsgewebe sowie den Ablauf einer Fremdkörperreaktion konnten wir bei den Nervenklebungen häufiger nachweisen, innerhalb der Klebegruppe jedoch nicht signifikant unterschiedlich.

		Naht	Klebung heterolog	Klebung autolog	+Faktor XIII	-Faktor XIII
Fremdkörper- reaktionen Granula- tionsgewebs- elemente	+++	-	-	3	1	2
	++	1	10	9	4	5
	+	9	2	-	-	-
Fett- zellen perineural und epineural	++	-	3	5	2	3
	+	2	9	7	3	4
	0	8	-	-	-	-
Faser- zell- gehalt	+++	-	3	5	2	3
	++	1	9	7	3	4
	+	9	-	-	-	-
Fettzell- gehalt im Axongewebe	++	-	2	3	1	2
	+	10	10	9	4	5

DISKUSSION

Eine perfekte Regeneration mit vollständiger Rückkehr aller sensiblen, vegetativen und motorischen Funktionen ist nach vollständiger Nervenverletzung nicht möglich. Um diesem Ideal jedoch maximal nahe zu kommen, wurden in der Vergangenheit verschiedenste Techniken bei der Rekonstruktion peripherer Nervenläsionen angewandt. Untersuchungen über deren positiven oder negativen Einfluß auf das Regenerationsverhalten des Nerven und die damit verbundene funktionelle Wiederherstellung führten zu folgenden Postulaten:

- Exaktes Auffrischen der Nervenstümpfe durch Resektion eventuell schon vorhandenen Narben- oder Neurinomgewebes, Beseitigung und Fernhalten jeglicher Verunreinigung (Blutkoagel, Klebesubstanzen) an den Anastomosenstellen, um Wachstumshemmungen der Regenerate zu vermeiden.
- Überbrückung des Defizienzielfektes um die verlorengegangene Kontinuität des peripheren Nerven lückenlos wiederherzustellen und somit die Proliferation der Büngnerschen Bänder und regenerierenden Axone zu begünstigen.
- Exakte Identifizierung der einzelnen Faszikelgruppen, sorgfältige Wiederherstellung der Kontinuität der Nervenhülle (Vermeidung von Einstülpungen und Dehissenzen).
- Sorgfältige Ingefestigung der Anastomosenstelle gegen mechanische Beanspruchung, Vermeidung von Spannung und Druck im Anastomosenbereich, Verhinderung einer Fibrose oder "Anastomosennarbe".
- Vermeidung von Narbenbildung infolge Traumatisierung oder als Resultat einer Abwehrreaktion gegen körperfremde Materialien.

Im Hinblick auf diese Forderungen hatte die Einführung des Operationsmikroskops und die damit verbundene mikrochirurgische Technik wesentliche Verbesserungen erzielen können. Ebenso bedeutungsvoll zeigte sich die Verwendung spannungsfrei defektdeckender Transplantate. Das Interesse konzentrierte sich jetzt immer mehr auf den Anastomosenbereich, dessen Stümpfe achsengerecht, spannungsfrei und lückenlos adaptiert werden konnten und jetzt gegen Dehiszenzen und Fehlstellung der Nervenfaserbündel infolge seitlicher Verschiebung gesichert werden mußten. Auch heute noch gilt die konventionelle epineurale Naht als Standardmethode, wobei durch wenige Knopfnähte die äußersten Nervenüllen in der adaptierten Stellung fixiert werden. Ihre Nachteile liegen in einer Traumatisierung mit - je nach Ausmaß - folgender Narbenbildung, der Verwendung körperfremden Materials und der somit drohenden Abwehrreaktion mit Ausbildung von Fremdkörpergranulomen und Fadenfisteln.

Versuche, die stabilisierende Funktion der Naht durch andere Maßnahmen zu ersetzen, führten zunächst zur Verwendung von Kunststofffolien bzw. -röhrchen. Einscheidungen des Nerven im Sinne einer Schienung und gleichzeitiger Schutz vor Narbenbildung von Seiten des umgebenden Gewebes, scheiterten jedoch an übermäßiger Bindegewebsvermehrung sive narbigen Alterationen. Als Alternative zur Naht stellte sich letztlich die Verklebung der Epineuralschläuche. Kunststoffsubstanzen auf Cyanacrylbasis stellten sich als geweboxisch heraus und führten zur Degeneration der so geklebten Nerven. Allein die Verwendung körpereigener Klebesubstanzen versprach Erfolg. Dabei werden durch Nachahmung der physiologischen Wundheilung die beiden entscheidenden Komponenten des Blutgerinnungssystems, Fibrinogen und Thrombin, zur Anwendung gebracht. Die erstmalige Verwendung dieses Plasmaklebers geht auf YOUNG und MEDAWAR (1940) zurück. MATRAS (1972) zeigte erstmals in ihren Untersuchungen eine Überlegenheit dieser Plasmanahht gegenüber der konventionellen auf.

In unserer Versuchsreihe verglichen wir die epineurale Naht mit Fibrinnähten unterschiedlicher Konzentration und Zusammensetzung.

Als Nahtmaterial diente dünnster Nylonfaden. Die Fibrinnähte unterteilen sich in

- a) die in allen Fällen gleichkonzentrierte heterologe Thrombinlösung (300 E/ml bovines Thrombin, Behringwerke).

Sie sollte in jedem Fall im Substratüberschuß vorhanden sein, um auch bei geringer Faktor-I-Konzentration und den vorhandenen Antithrombinen, Plasminogen und Plasminaktivatoren einen genügend starken Fibrinclot herbeiführen zu können;

- b) die autologe und heterologe Fibrinogenlösung unterschiedlicher Herkunft und Konzentration.

Die autologen Konzentrate wurden mittels kryopräzipitativer Technik von jedem Tier selbst hergestellt und unterlagen bei einer durchschnittlichen Konzentration von 2,8 g% einer biologischen Schwankungsbreite (unterschiedlicher Faktor-I-Blutspiegel). Sie enthielten in höherem Maß als die heterologen Lösungen Antithrombine und Plasminogen des Serums.

Die heterologen Fibrinogenlösungen entstammten kommerziellen lyophilisierten Konzentraten (Humanes Fibrinogen, Behringwerke). Durch Verdünnung der in einer Stichflasche als Trockensubstanz (1 g) vorhandenen Peptide erzielten wir eine standardisierte maximale Konzentration von 8,6 g% Fibrinogen.

- c) Der Hälfte der mit autologem Faktor I geklebten Nerven wurden noch 1 - 2 Tropfen eines Faktor-XIII-Konzentrats zugesetzt (entsprechend der Aktivität von 250 ml humanem Blut), womit wir durch eine zusätzliche Quervernetzung des Fibringerinnsels eine Stabilisierung gegen Fibrinolyse erreichen wollten.

Bei den Operationen kamen beide Techniken der Anastomosenfixierung zum Zuge. Die nach vollständiger Nervendurchtrennung entstandene Dehiszenz wurde in 34 Fällen spannungsfrei mittels eines autologen Volltransplantats gedeckt, das wir der Gegenseite entnahmen. In weiteren 34 Fällen verwendeten wir heterologe lyophilisierte Transplantate (Braun-Melsungen, Humane periphere Nerven).

Bei der Nahtgruppe wurden beide Anastomosenstellen durch jeweils zwei Knopfnähte im Epineurium zugfest verbunden. Die Klebgruppe zerfiel nach ihrer Fibrinogenkomponente in zwei Untergruppen. Bei den Klebungen, die mit autologem Faktor-I-Konzentrat vorgenommen wurden, tropften wir eine größere Menge auf die Anastomosenstellen auf (6 - 8 Tropfen), der entstehende Fibrinclot erstreckte sich von oberhalb der proximalen bis unterhalb der distalen Anastomose mit Einschluß des gesamten Transplantatbereichs. Wir trafen keinerlei Maßnahmen, um ein Abfließen der Klebelösungen in das umgebende Gewebe und somit eine primäre zugfeste Fixierung des Nerven an seiner Umgebung zu verhindern. Bei den Nervenklebungen mit heterologem Fibrinogen verwandten wir nur 1 - 2 Tropfen, die Fibringerinnung bedeckten nur die Anastomosenstellen, der Transplantatbereich blieb frei, ein Abfließen der aufgetragenen Substanzen und Festheften der Fibrinkoagel bereits während des Gerinnungsvorgangs wurde durch Unterlegen einer Aluminiumfolie verhindert, die vor Verschluss des Operationsgebietes nach etwa 10 Minuten wieder entfernt wurde.

Alle Manipulationen am Nerven wie an den Transplantaten (Resektion, Adaption, Anlegen der Nähte etc.) erfolgten unter mikrochirurgischen Kautelen bei 16 - 40facher Vergrößerung und der Verwendung mikrochirurgischen Instrumentariums.

Vom Standpunkt des Operateurs erscheint die Technik der Nervenklebung wesentlich vorteilhafter, weil sie einfacher zu handhaben ist, und viel weniger zeitraubend in der Ausführung. Außerdem erscheinen Tagesverfassung, ausreichendes Training des Operateurs und seines Operationsteams weniger limitierend als bei der Nervennaht, wo das Ausmaß des in jedem Fall entstehenden Traumas durch den Verlauf der Stichkanäle oder die Spannung einer zu fest geknüpften Naht zu unterschiedlichen Narbenbildungen führt. Wir konnten solche narbigen Alterationen durch zu weit endoneural verlaufende Nähte nachweisen, während exakt epineural liegende Nähte zu keiner Bindegewebsvermehrung Anlaß geben.

Die Forderung nach Zugfestigkeit der Anastomosenstellen gegen mechanische Einwirkung erfüllten bei der kurz vor Verschuß des Operationsgebietes vorgenommenen Prüfung alle geklebten und genähten Nerven, es konnten keine Dehissenzen festgestellt werden. Allerdings erschienen die autologen Fibrinclots etwas elastischer als die heterologen. Im histologischen Bild fand sich nur bei einigen autolog ohne Faktor XIII geklebten Nerven eine Unterbrechung der Kontinuität des Epineuriums und ein Ausbruch von Nervenfasern aus der äußeren Nervenhülle. Dieser Tatbestand unterstreicht die Wirksamkeit des Fibrinstabilisierenden Faktors (FSF) bei geringeren Fibrinogenkonzentrationen und die größere Anfälligkeit des Fibrinclots gegen Plasminwirkung. Die Wirkungsweise dieses antifibrinolytischen Faktors besteht in einer Quervernetzung der fadenförmigen Fibrinmoleküle zu höherpolymerisierten Einheiten und damit einer erschwerten Fibrinolyse. Bei den dreimal höher konzentrierten heterologen Faktor-I-Lösungen, die zusätzlich weniger Plasminogene und Antithrombine enthielten, schien diese Wirkung nicht mehr ins Gewicht zu fallen.

Die makroskopische Begutachtung der Nerven am Ende der mindestens 8otägigen Überlebenszeit brachte deutliche Unterschiede hinsichtlich ihrer bindegewebigen Verwachsungen und ihres Aussehens. Es zeigten sich in allen Fällen im Anastomosenbereich geringfügige bis großkolbige, neurinomartige Auftreibungen. Die geringsten derartigen Veränderungen fanden sich bei der Gruppe der Nerven-nähte und bei den heterologen Klebungen. Bei den autologen Klebungen war auch der Transplantatbereich noch etwas verdickt. Außerdem zeigte sich bei der gesamten Klebegruppe vermehrt Fettgewebe im Bereich um das Transplantat. Die stärksten Unterschiede bezogen sich auf die Verklebung des Nerven mit seiner Umgebung. Die Nerven-nähte ließen sich sehr leicht mobilisieren und wiesen fast keine Verwachsungen auf. An den heterolog geklebten Nerven fanden sich hartnäckige Verwachsungen lokal auf die Anastomosenstellen begrenzt.

Die Verwendung autologer Faktor-I-Konzentrate führte zur bindegewebigen Fixierung des gesamten Transplantatbereichs, wobei diese noch über die Anastomosenstellen hinaus reichte. Die Stärke und Ausdehnung dieser Ummauerung steht in auffallendem Bezug zur Verwendung der Klebesubstanzen überhaupt, und zur Ausdehnung der Fibringerinnsel und ihren Kontaktflächen mit dem umgebenden Gewebe. Ursächlich für diese Reaktionen scheint uns bei den autolog geklebten Nerven die primäre Vernetzung des Fibrins während des Gerinnungsvorgangs mit dem Bindegewebe der Nervenhülle und mit den umgebenden Gewebsabschnitten zu sein. SPÄGLER (1976) konnte durch elektronenspektroskopische Untersuchungen eine chemische Bindung zwischen Fibrin und kollagenem Gewebe nachweisen, und damit die Genese der beschriebenen Verwachsungen klären.

Bei den heterolog geklebten Nerven scheint eine sekundäre Verbindung vorzuliegen, da während der Reifung des Fibrinclots ein Kontakt zum umgebenden Gewebe verhindert wurde. Auf die negativen Auswirkungen dieser lokalen Verwachsungen hinsichtlich der Regeneration des Nerven wiesen eingehend LEHMANN und HAYES (1967) hin. Dabei dürften vorwiegend ringförmige, narbige Strikturen wirksam werden, die sowohl zur Hemmung des Breitenwachstums der Regenerate als auch zu weiteren Fibrosierungen Anlaß gaben.

Bei den lyophilisierten Transplantaten - die analog den autologen fixiert wurden - zeigten sich verschieden starke Verbackungen. Bei allen Präparaten fanden sich am proximalen Stumpf Amputationsneurome, der distale Nervenabschnitt war degenerativ verschmälert. Aus beiden Stümpfen wuchsen strahlenförmig Fasern aus, die Anastomosenstellen waren vielfach nicht mehr aneinander fixiert. Nach den funktionellen Ergebnissen, zu denen verschiedenste Autoren an Hand von elektrophysiologischen Untersuchungen kamen, ist die Anwendung lyophilisierter Transplantate nicht erfolgversprechend. Es konnte keine Funktionsrückkehr beobachtet werden.

Die differenziertesten Aussagemöglichkeiten über Vergleiche der angewandten Operationstechniken läßt - analog einer funktionellen elektrophysiologischen Prüfung in vivo - die histologische Begutachtung der Nervenpräparate zu.

Die Kriterien dafür lassen sich in drei Gruppen zusammenfassen:

Reaktionen des Bindegewebes,
Veränderungen der regenerierten Axone,
Art und Menge zellulärer Elemente.

Zunächst zum Stützgewebe des Nerven: Die stärksten Verdickungen von Epi- und Perineuralhüllen sowie endoneuralen Faserstrukturen zeigten die Nervenklebungen, bei dieser Gruppe die mit autologem Fibrinogen versorgten Nerven am ausgeprägtesten. Das stimmt auffallend mit den makroskopischen Erscheinungsbildern überein, was die fibrotische Fixierung am umgebenden Gewebe betrifft. Ursächlich dafür können sekundäre Fibrosierungen infolge narbiger Strikturen sein, welche allein durch die mechanische Komponente zu einer Bindegewebsvermehrung führen bzw. über eine verschlechterte trophische Situation als degenerative Prozesse auftreten.

Die Blutgefäßversorgung wird durch das Trauma der Nervendurchtrennung unterbrochen und die Ernährung des Transplantats sowie der unversorgten Nervenabschnitte erfolgt über Diffusion von seiten der Gewebsflüssigkeit. Es scheint, daß der mantelförmig über den geklebten Stellen liegende Fibrinfilz und seine spätere bindegewebige Organisierung Diffusionshindernisse darstellen. Außerdem beeinträchtigt die Entwicklung von Narbengewebe die Blutversorgung durch Lumeneinengung der Gefäße und verhindert eine ordentliche Revaskularisierung. Neben diesen sekundären fibrotischen Alterationen üben die Klebesubstanzen selbst einen stimulierenden Effekt auf die Fibroblasten aus, es kommt zu einer primär vermehrten Fasermaterialproduktion. SPÄNGLER (1976) fand eine vermehrte Bildung kollagener Fasern bei Fibrineinwirkung, BECK (1964) wies auch anderen Faktoren des Gerinnungssystems eine Stimulierung der Fibroblastentätigkeit zu (BECK, DUCKERT, VOGEL, ERNST, 1964).

Bei den Nervennähten fanden sich keine direkten Bindegewebsvermehrungen. Es kam nur durch Zugwirkung einer zu fest gezogenen Naht oder infolge einer Traumatisierung durch zu weit endoneural verlaufende Nähte zu narbigen Veränderungen in diesen Bereichen. Auch die unterschiedliche Ausdehnung der Bindegewebsproliferation bei Verwendung unterschiedlicher Klebstoffmengen weist auf die direkte Faserstimulation durch Fibrin hin.

Ein weiteres Hindernis für die Ausbildung guter Regenerate war die Infiltration von Bindegewebszügen in den Anastomosenbereich, sowie Einstülpungen des Epineuriums und Unterbrechung seiner Kontinuität mit Ausbruch von Nervenfasern aus der äußersten Bindegeweshülle. Die ausgeprägtesten Einsprossungen von Faserzügen in das Anastomosengebiet fanden sich bei der autologen Klebgruppe ohne Faktor XIII-Zugabe, teilweise verbunden mit einer Bruchstufe im Epineurium. Bei Verwendung der heterologen Fibrinogenlösung kam es ebenfalls zu einsprossenden Bindegewebssträngen, jedoch blieb die Kontinuität des Epineuralschlauches gewahrt. Anscheinend läßt sich ein Eindringen von Klebesubstanzen zwischen die Kontaktfläche der Stümpfe und des Transplantats nicht mit Sicherheit verhindern. Bei den Nervennähten fehlten diese eindringenden Faserzüge.

Da sich nur bei der autologen Klebgruppe eine Diskontinuität des Epineuralmantels einstellte, liegt die Vermutung nahe, daß bei den beiden Klebgruppen die unterschiedliche Fibrinogenkonzentration zum Tragen kommt, damit unterschiedlich große mechanische Belastbarkeit und Stabilität des Fibrinclots gegen Fibrinolyse. Auffällige Differenzen innerhalb der autologen Klebgruppe bringt die Anwendung von Faktor XIII, die sich in den beschriebenen histologischen Bildern manifestieren. Anscheinend wirkt sich die über zusätzliche Quervernetzung der Fibrinmoleküle zu Stande kommende Stabilisierungsfunktion des Fibrinstabilisierenden Faktors nur bei den niedriger konzentrierten autologen Faktor-I-Lösungen aus. Bei höherer Konzentration ist das Gerinnsel allein genügend stabil.

Die Regeneration der Axone steht in enger Verbindung zu den beschriebenen Veränderungen am Nervenstützgewebe. Je geringer dessen Alterationen und Disorganisationen sind, desto besser gestaltet sich auch das histologische Bild der regenerierten Axone. Wichtig für die proliferierenden Axone sind die bindegewebigen Leitschienen in Form der Schwannschen Bänder und der verschiedenen Nervenhiillen, es muß also die Kontinuität der Epi- und Perineuralschläuche gewährleistet sein. Diese scheint sowohl durch Naht als auch durch Klebung in genügender Stabilität erreicht zu werden. Genauso ausschlaggebend für Güte und Ausmaß der strukturellen Erneuerung des Nervengewebes sind die Hindernisse, welche sich den proliferierenden Axonen in den Weg stellen, und sie in ihrer Wachstumsrichtung, Wachstumsdichte und Wachstumsgeschwindigkeit beeinflussen, die im schlimmsten Fall einen Stop der Proliferation mit Neurinombildung herbeiführen. Hierbei wirken sich alle Formen der Bindegewebsvermehrung von der zirkulären Striktur über Infiltration von Faserzügen und endoneurale Fibrosierungen negativ aus. Diesbezüglich lieferte die besten Bilder die Gruppe der Nervenhihte. Auch hier konnten narbige Strikturen und Einstülpungen des Epineuralschlauches gefunden werden, doch lassen sich beide auf operative Ursachen zurückführen. Eine primäre Stimulierung der Faserbildung mit exzessiver Bindegewebswucherung - wie sie bei den Klebungen auftrat - ist ein Tatbestand, der die Regenerationsergebnisse a priori, unabhängig vom Operateur, deutlich limitiert.

Verschiedene Zellelemente ließen auf abgelaufene Reaktionen in den jeweiligen Nervenabschnitten schließen. Der Fettzellgehalt des Axongewebes war bei den Klebungen etwas größer als bei den Hihten. Bei allen Präparaten fanden sich diese Zelltypen gehäuft im Epi- und Perineurium. Sie lassen Rückschlüsse auf das Ausmaß einer regressiven Reaktion im Sinne einer fettigen Degeneration zu.

Ein zweites degeneratives Substrat fand sich als Fibrosierung der Axonelemente. Diese fibrotischen Alterationen spiegelten sich auch im Faserzellgehalt der untersuchten Präparate wieder. Gemäß der Bindegewebsproliferation konnten wir bei den Klebungen vor allem epineural eine vermehrte Anzahl solcher Zellen feststellen. Neben diesen Degenerationszeichen fand sich auch reichlich Granulationsgewebebildung bei der Klebegruppe als Ausdruck einer Organisierung der Fibrinmanschetten. Drastische Abwehrreaktionen wie Abszeß- und Sequesterbildung oder Fremdkörpergranulome konnten nicht beobachtet werden. Auch bei den mit heterologem Faktor-I-Konzentrat geklebten Nerven zog das Fibrinogen keine derartigen Reaktionen nach sich (FINLAYSON und MOSESSON 1969).

Letztlich fiel die Verwendung absolut körperfremden Nahtmaterials weniger ins Gewicht, als die Anwendung fibroblastenstimulierender Klebesubstanzen. Die ausgeprägte Vermehrung der bindegewebigen Anteile des Nerven infolge einer Aktivierung der Faserbildung scheint uns das wesentlichste Argument gegen die Verwendung auch eines körpereigenen Fibrinklebers zur Fixierung der Anastomosenstellen bei Nerventransplantationen zu sein. Gelänge es, die Faserbildung beispielsweise durch Cortisonmedikation oder durch eine veränderte Menge und Anteiligkeit der Klebekomponenten (Faktor I, Faktor XIII, Thrombin) am resultierenden Fibringerinnsel zu vermindern, so könnten die Vorteile der Klebung deutlicher ins Blickfeld rücken. In anderen chirurgischen Operationsfeldern (GERENDAS 1968), wo Bindegewebsproliferation nicht störend wirkt oder sogar erwünscht ist (SPÄGLER 1976), oder wo eine Naht undurchführbar ist, wird die Plasmanaht sicher Einzug halten. Zur zugfesten Vereinigung von Nerven Anastomosen jedoch scheint uns nach der vorliegenden Untersuchung die Nahttechnik weiterhin die Methode der Wahl zu sein.

ZUSAMMENFASSUNG

Bei 34 Kaninchen wurden in einer Versuchsserie operativ beide n. ischiadici durchtrennt. Die zur Deckung der Dehiszenz eingefügten autologen (freie Volltransplantate der Gegenseite) und heterologen Transplantate (humane lyophilisierte Nerven) wurden an den Anastomosenstellen unter mikrochirurgischen Kautelen in der adaptierten Stellung fixiert. Dies geschah im einen Fall mittels herkömmlicher epineuraler Nervennaht, im anderen Fall mit einem Fibrinogen-Thrombin-Kleber. Nach einer Überlebensdauer von 80 bis 132 Tagen postoperativ wurden die Tiere getötet und die Nerven makroskopisch und mikroskopisch befundet.

Der Vergleich zwischen heterologen und autologen Transplantaten fiel eindeutig zu Gunsten der letzteren Gruppe aus. Die lyophilisierten Implantate erwiesen sich als einer regelrechten Regeneration hinderlich und sind daher abzulehnen.

Bei der makroskopischen Begutachtung zeigten sich die größten Unterschiede hinsichtlich der Verwachsungen des Nerven mit dem umgebenden Bindegewebe: Bei den geklebten Nerven waren sie am stärksten ausgeprägt. Ursache dafür ist zum einen die Verwendung der Klebesubstanzen überhaupt, zum anderen, bezüglich der Modifizierungen innerhalb der Klebegruppe, spielt der Zeitpunkt (primäre Vernetzung während der Fibrinreifung) und die Ausdehnung (Menge der Klebesubstanzen) des Kontaktes mit dem umgebenden Gewebe eine Rolle.

Bei der histologischen Untersuchung fielen ebenfalls die unterschiedlichen Reaktionen des Bindegewebes am meisten auf. Während sich die Proliferation bei den Nervennähten ganz lokal auf den Nahtbereich begrenzen ließ, fanden sich bei der Klebegruppe epi-, peri- und endoneurale Bindegewebsvermehrungen, die teilweise fast bis zur Obliteration eines Faszikels führten. Im Anastomosenbereich imponierten bei dieser Gruppe von epineural infiltrierende Faserzüge, die bei den Nähten fehlten. Analog diesen Reaktionen fanden sich bei den Klebungen stärkere Alterationen der Axonregenerate in Bezug auf Dichte und Wachstumsrichtung.

Bei keinem der befundeten Nerven zeigten sich Anzeichen für eine drastische Abwehrreaktion.

Sind narbige Veränderungen bei Nervennähten vorwiegend auf Zugwirkung einer schlecht gesetzten Naht zurückzuführen, so bringt die Verwendung von Klebesubstanzen einen direkt fibroblastenstimulierenden Effekt mit sich. Entsprechend der vermehrten Faserbildung ist das Ausmaß der Axonregenerate von vornherein limitiert. Dieser Tatbestand erscheint uns das entscheidendste Argument gegen die Nervenklebung zu sein, und läßt uns weiterhin der mikrochirurgischen Naht den Vorzug geben.

LITERATURVERZEICHNIS

BALLANCE C., DUEL A. B.
The operative treatment of Facial Palsy.
Arch. Otolaryng. 15, 1-70, Chicago (1932)

BECK E., DUCKERT F., VOGEL A., ERNST E.
Der Einfluß des fibrinstabilisierenden Faktors (FSF) auf Funktion und Morphologie von Fibroblasten in vivo.
Z. Zellforschung 57, 327-346 (1962)

BECKER W., RAPP W., SCHWICK H. G., STÖRIKO K.
Methoden zur quantitativen Bestimmung von Plasmaproteinen durch Immunpräzipitation.
Z. Klin. Chem. 6, 113-122 (1968)

BERGER A., GANGLBERGER J., MILLESI H.
Experimentelle Untersuchungen zur Nervennaht mit Klebstoffen.
Berichte Intern. Symposium über Klebstoffe in der Chirurgie
Wien 1967
Verlag der Wiener Medizinischen Akademie, Wien 1968

BERGER A., MEISSL G., SAMII M.
Experimentelle Erfahrungen mit Kollagen über nahtlose Nerven-anastomosen.
Acta neurochir. 23, 141-149 (1970)

BIELSCHOWSKY M., UNGER E.
Überbrückung großer Nervenlücken. Beiträge zur Kenntnis von Degeneration und Regeneration peripherer Nerven.
J. Physiol. Neurol. 22, 267-318 (1916-1918)

BÖHLER J.
Weitere Erfahrungen mit der Mikrofilterumscheidung von Nervennähten.
Lang. Arch. Klin. Chir. 304, 944-951 (1963)

BOHN H.
Isolierung und Charakterisierung des fibrinstabilisierenden Faktors aus menschlichen Thrombozyten,
Thromb. Diath. haemorrh. Vol. XXIII, 3, 455-468 (1970)

BRAUN R. M.
Comparative studies of neurohaphy and sutureless peripheral nerve repair.
Surg. Gyn. Obst. 122, 15-18 (1966)

BUNNELL S.

Nerven

in: Die Chirurgie der Hand, BUNNELL S., Band I, 444-528
Wilhelm Maudrich Verlag, Wien, Bonn, Bern 1958

BUNNELL S., BOYES J. H.

Nerve grafts

Amer. J. Surg. 44, 64-75 (1939)

CAMPBELL J. B., BASSETT C. A., HUSBY J., THULIN C. A., FERINGA E. R.
Microfilter sheaths in peripheral nerve surgery.

J. Trauma 1, 139-157 (1961)

DENNY BROWN D.

Importance of Neural Fibroblasts in the Regeneration of Nerves.

Arch. Neur. and Psychiatr. 55, 171-215 (1946)

DENNY BROWN D., DOHERTY M.

The Effect of transient stretching of peripheral Nerve.

Arch. Neurol. and Psychiatr. 54, 116-129 (1945)

EDSHAGE S.

Peripheral nerve suture.

Acta Chir. Scand. Suppl. 331, 1, 1-104 (1964)

FAUL P., HEISS W., STRUPPLER A., BRENDL W.

Ersatz der chirurgischen Naht durch Klebstoff.

Zbl. Neurochir. 26, 97-105 (1965)

FINLAYSON J. S., MOESSON M. W.

Chromatographic heterogeneity of animal fibrinogen.

Biochem. Biophys. Acta 82, 415-417 (1969)

FREEMAN B. S.

Adhesive neural anastomosis.

Plast. reconstr. Surg. 35, 167-176 (1965)

GELDMACHER J.

Die Wiederherstellung verletzter Nerven.

Münch. med. Wschr. 11, 2675-2679 (1969)

GERENDAS M.

Fibrin Products as Aids in Hemostasis and Wound Healing.

in: Fibrinogen, K. LAKI, 277-316

M. Dekker, New York 1968

GOLDFARB A. J., TARLOV I. M., BOJAR S., WIENER A. S.
Plasma clot tensile strength measurement: Its relation to Plasma-fibrinogen.
J. clin. Invest. 22, 183-190 (1943)

HEISS W. H., FAUL P.
Nervennaht mit Klebstoff
Lang. Arch. Klin. Chir. 313, 183-190 (1965)

HIGHET W. B., HOLMES W.
Traction injuries to the lateral popliteal nerve - a tractional injury to peripheral nerves after suture.
Brit. J. Surg. 30, 212-233 (1943)

HOLMES W.
Histological observations on the repair of nerves by autografts.
Brit. J. Surg. 35, 167-173 (1947-1948)

HUBER G. C.
Repair of peripheral nerve injuries.
Surg. Gyn. Obst. XXX, 464-471 (1920)

KLINE D. G., HAYES G. J.
An experimental evaluation of the effect of a plastic adhesive methyl-2-cyanoacrylate on neural tissue.
J. Neurosurg. 20, 647-654 (1963)

LEHMANN R., HAYES G. J.
Degeneration and Regeneration in peripheral Nerve.
Brain 90, 285-295 (1967)

LEHMANN R., HAYES G. J., LEONARD F.
Toxicity of Alkyl-2-Cyanoacrylates, I. Peripheral Nerve.
Arch. of Surg. 93, 441-446 (1966)

MATRAS H., DINGES H. P., LASSMANN H., MAMOLI B.,
Zur nahtlosen interfaszikulären Nerventransplantation im Tierexperiment.
Wiener med. Wschr. 37, 517-523 (1972)

MAURER SCHMID
Periphere Nervenverletzungen
in: Chirurgische Operationslehre, B. BREITNER, Band V 4 E, 2-4
Urban und Schwarzenberg Verlag, München 1971

MICHON J., MASSE P.
Le moment optimum de la suture nerveuse dans les plaies du membre
superieur.
Rev. Chir. orthop. 50, 205-212 (1964)

MILLES I H.
Wiederherstellung durchtrennter peripherer Nerven und Nerven-
transplantation.
Münch. med. Wschr. 111, 2669-2674 (1969)

MILLES I H., GANGLBERGER J., BERGER A.
Erfahrungen mit der Mikrochirurgie peripherer Nerven.
Chir. plast. Reconstr. 3, 47-55 (1967)

NIGST H.
Die Chirurgie der peripheren Nerven.
G. Thieme Verlag, Stuttgart 1955

NIGST H.
Periphere Nerven
In: Lehrbuch der Chirurgie, HELLNER H., NISSEN R., VOSSSCHULTE K., 218-234
G. Thieme Verlag, Stuttgart 1970

POOL J. G., SHANNON A. E.
Production of highpotency Concentrates of Antihemophilic Globulin
in a closed Bag System.
New Engl. J. Med. 273, 1443-1447 (1965)

RAMON Y., CAYAL S.
Degeneration and Regeneration of the Nervous System.
Band I, 1-396, Oxford 1928

RICHTERICH R.
Plasmafibrinogen: Biuret-Methode.
In: Klinische Chemie, RICHTERICH R., C IV d 3, 315-317
S. Karger Verlag, Basel 1971

SEDDON H. J.
Three types of Nerve Injury.
Brain 66, 237-288 (1943)

SEDDON H. J.

The use of autogenous grafts for the repair of large gaps in peripheral nerves.

Brit. J. Surg. 35, 151-167 (1947)

SEDDON H. J.

Fortschritte in der Behandlung von Nervenverletzungen.

Triangel 8, 252-259 (1968)

SMITH J. W.

Microsurgery of peripheral nerves.

Plast. reconstr. surg. 33, 317-329 (1964)

SMITH J. W.

Factors influencing nerve repair: I. Blood supply of peripheral nerves.

Arch. Surg. 93, 335-341 (1966)

SMITH J. W.

Factors influencing nerve repair: II. Collateral Circulation of peripheral nerves.

Arch. Surg. 93, 433-437 (1966)

SPÄGLER H. P.

Gewebeklebung und lokale Blutstillung mit Fibrinogen, Thrombin und Blutgerinnungsfaktor XIII.

(Experimentelle Untersuchungen und klinische Erfahrungen)

Beilage zur Wiener klin. Wschr. 88, Heft 4, 3-18 (1976)

SUNDERLAND

The Connective Tissues of Peripheral Nerves.

Brain 88, 841-854 (1965)

TARLOV I. M.

Plasma clot suture of nerves - illustrated technique.

Surg. 15, 257-269 (1944)

TARLOV I. M., BENJAMIN B.

Plasma clot and silk suture of nerves.

An experimental study of comparative Tissue Reactions.

Surg. Gyn. Obst. 76, 366-374 (1943)

TARLOV I. M., DENSLOW C., SWARZ S., PINELES D.

Plasma clot suture of nerves - Experimental technique.

Arch. Surg. 47, 44-56 (1943)

WACHTEL E.

Biochemie und klinische Bedeutung des Gerinnungsfaktors XIII (FSF).
Pharm. Z. 113 Jg, 40, 1571-1578 (1973)

WEISS P.

Nerve reunion with sleeves of frozen dried artery in rabbits,
cats and monkeys.

Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y. 54, 274-277 (1943)

WEISS P., TAYLOR A. C.

Repair of peripheral nerves by grafts of frozen-dried nerves.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 52, 326-328 (1943)

YOUNG J. Z., HOLMES W., SANDERS F. K.

Nerve Regeneration

Lancet 239, 128-130 (1940)

YOUNG J. Z., MEDAWAR P. B.

Fibrin suture of peripheral nerves.

Lancet 239, 126-128 (1940)

Herrn Professor Dr. Hegemann, dem Vorstand der Chirurgischen Universitätsklinik Erlangen, danke ich für die mir gebotenen Arbeitsmöglichkeiten in der Tierexperimentellen Abteilung.

Herrn Professor Dr. Geldmacher danke ich für das Thema und für seine Unterstützung bei den auftauchenden Fragen.

Herrn Dr. von Rauffer bin ich sehr dankbar für seine fortwährende Freundlichkeit und Anteilnahme, und für die tatkräftige Hilfe bei der Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Priv. Doz. Dr. David vom 1. Physiologischen Institut in Erlangen, der uns mit unvergleichlicher Ausdauer und Hilfsbereitschaft beriet, und für unsere Untersuchungen ganze Nächte opferte.

Besonders danke ich Herrn Professor Dr. Rohen, dem Vorstand des Anatomischen Instituts in Erlangen, der mir einen Arbeitsplatz in seinem histologischen Labor zur Verfügung stellte, und mich bei allen Problemen mit großer Freundlichkeit und Geduld beriet.

Mein Dank gilt Herrn Professor Dr. Horstmann vom 1. Physiologisch-Chemischen Institut in Erlangen für die wertvollen Hinweise zu den biochemischen Problemen der Arbeit und für die Arbeitsmöglichkeit in seinem Labor.

Weiterhin danke ich ganz herzlich allen die in der Tierexperimentellen Abteilung arbeiten für ihre Hilfsbereitschaft bei den vielen praktischen Schwierigkeiten, und für ihre stetige Ermutigung.

LEBENS LAUF

Am 8. Mai 1951 wurde ich als erstes Kind meiner Eltern Ruth und Alfred Schuh geboren.

Im September 1957 Eintritt in die Volksschule Cadolzburg. Nach vier Jahren wechselte ich an das Helene-Lange-Gymnasium in Fürth über. Im Juli 1970 legte ich dort nach neun Schuljahren meine Reifeprüfung ab. Im Wintersemester 1970/71 studierte ich an der Pädagogischen Hochschule in Nürnberg. Im Sommersemester 1971 immatrikulierte ich mich in Erlangen an der Friedrich-Alexander-Universität als Studentin der Humanmedizin. Nach vier Semestern legte ich hier die ärztliche Vorprüfung ab. Am 2. August 1977 habe ich mein Medizinstudium mit dem Staatsexamen beendet.

Dissertationsdruck
GmbH & Co. KG.

M. SCHADEL

86 Bamberg · Hohe-Kreuz-Str. 9b · Tel. 0951/5 44 14